Numero 303
Novembre 1993
Anno XXVI
Volume LI

Vita, morte e sistema immunitario

Se definendo e difendendo il «sé» il sistema immunitario rende possibile la vita, il suo malfunzionamento determina malattia e morte: lo studio integrato dei due aspetti fa emergere una visione unitaria della biologia

di Sir Gustav J. V. Nossal

Che cosa avevano in comune Franz Schubert, John Keats ed Elizabeth Barrett Browning? Ognuno di loro era un genio creativo, e la loro vita fu tragicamente interrotta da una malattia infettiva che oggi si sarebbe potuta prevenire o curare. I progressi nel trattamento di queste malattie sono indubbiamente da considerare fra le massime conquiste della scienza moderna. Il vaiolo è stato del tutto debellato e, per la fine del secolo, la poliomielite e il morbillo potrebbero diventare problemi del passato. I risultati positivi della lotta contro le malattie infettive sono stati così consistenti che, prima dell'attuale pandemia di AIDS, i paesi industrializzati avevano posto queste patologie in fondo alla lista delle priorità nazionali.

Questi progressi quasi incredibili della sanità pubblica giustificherebbero da soli grandi sforzi per comprendere il sistema immunitario dell'uomo. L'ambito dell'immunologia abbraccia però questioni che vanno al di là di quelle riguardanti la natura e la prevenzione delle infezioni. La ricerca immunologica sta indicando nuovi metodi per la cura del cancro e delle malattie dovute a errori o disfunzioni che si verificano nel sistema immunitario. Questo tipo di indagine offre anche un quadro di riferimento scientifico per studiare l'organizzazione chimica dei sistemi viventi e giungere, tramite l'integrazione di queste informazioni, a conoscere il funzionamento dell'organismo nel suo complesso.

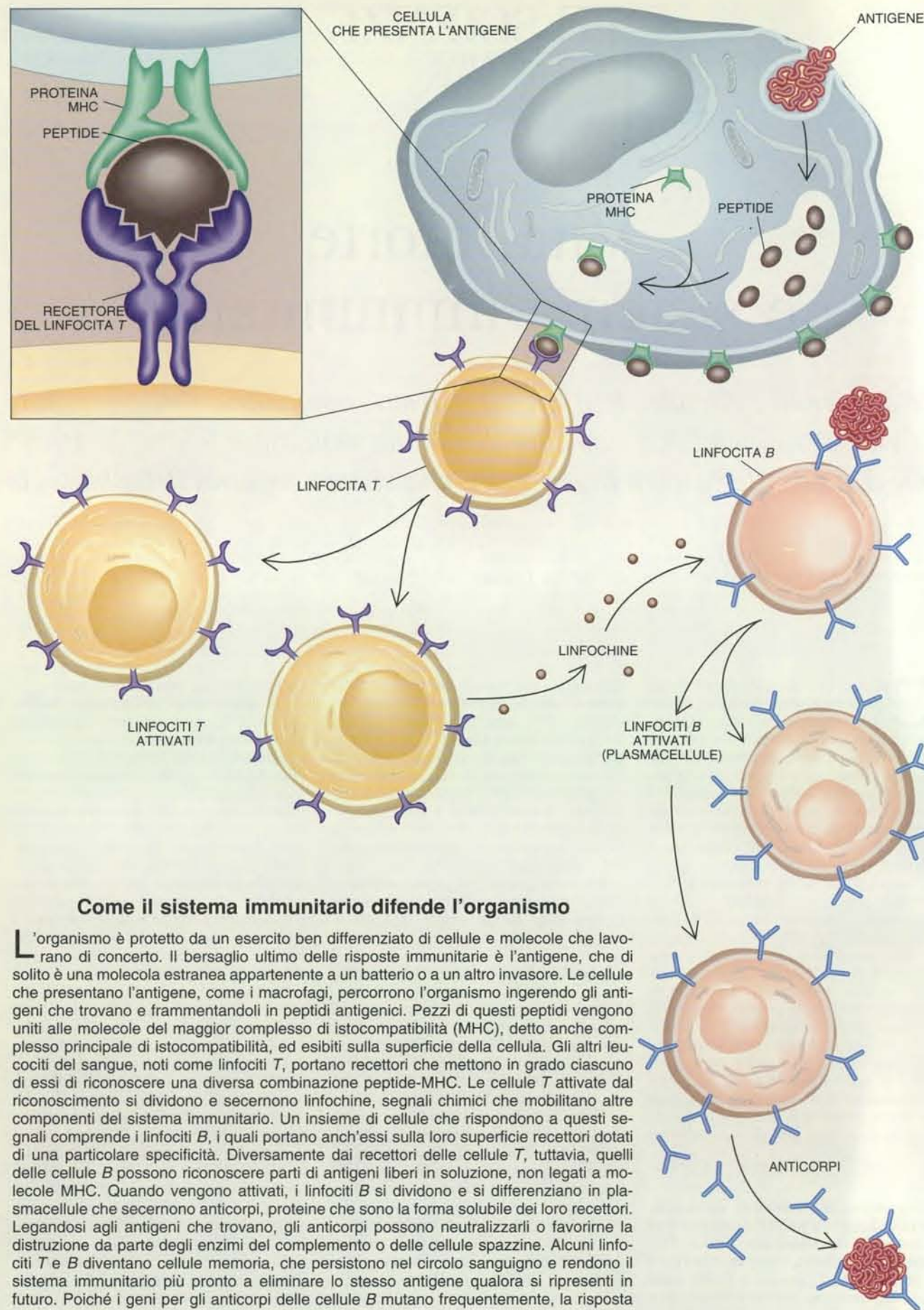
Mi vergogno un po' ad ammettere di non avere riconosciuto immediatamente l'importanza fondamentale dell'immunologia. Quando ero studente in medicina, negli anni cinquanta, mi interessai dei virus, nella convinzione che studiandone la crescita si potessero svelare i dettagli più nascosti del processo della vita. Era una mia aspirazione studiare con Sir Frank Macfarlane Burnet, eminente virologo australiano che lavorava al Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research di Melbourne.

Dopo la laurea e il tirocinio ospedaliero, fui abbastanza fortunato da ottenere il posto. Tuttavia Burnet mi scrisse per informarmi che era sempre meno interessato ai virus e sempre più a studiare il sistema immunitario dell'uomo. La mia prima reazione fu di totale sconforto. Ero convinto che i grandi pionieri dell'immunologia - Louis Pasteur, Paul Ehrlich ed Emil A. von Behring - avessero già scoperto tutte le verità fondamentali sulla natura dell'immunità. La sanità pubblica, ossia il principale campo di applicazione della ricerca immunologica, mi appariva come l'argomento più scialbo del curriculum medico.

Adesso capisco quanto mi stavo sbagliando. Non appena iniziai il lavoro di specializzazione, una serie di scoperte relative all'immunità inaugurarono uno dei capitoli più straordinari nella storia della biomedicina. Si osservò che i linfociti, globuli bianchi del sangue deputati alla distruzione dei microrganismi patogeni che entrano nell'organismo, possono attaccare le cellule tumorali e tenerle in scacco, almeno temporaneamente. Altri esperimenti dimostrarono che quegli stessi linfociti possono anche comportarsi in modi più spiacevoli; per esempio, possono agire contro le cellule estranee degli organi trapiantati e determinarne il rigetto. Se poi la regolazione del sistema immunitario viene meno, i linfociti possono aggredire cellule appartenenti all'organismo stesso che dovrebbero proteggere, producendo malattie autoimmuni potenzialmente fatali.

Tutte queste scoperte fecero aumentare l'interesse per uno degli enigmi più importanti e sconcertanti del sistema immunitario: vale a dire come esso riesca a riconoscere un numero apparentemente infinito di virus, batteri e altri elementi estranei che minacciano la salute dell'organismo. La maggior parte delle interazioni biochimiche, come il legame di un ormone al suo recettore o l'adesione

La vaccinazione infantile di massa condotta in Nigeria e in altri paesi in via di sviluppo ha drasticamente ridotto l'incidenza di malattie come la difterite e la poliomielite. L'attacco a livello mondiale alle malattie infettive è stato uno dei trionfi dell'immunologia moderna.

CELLULA CHE PRESENTA L'ANTIGENE
ANTIGENE
PROTEINA MHC
PEPTIDE
RECETTORE DEL LINFOCITA *T*
PROTEINA MHC
PEPTIDE
LINFOCITA *T*
LINFOCITA *B*
LINFOCITI *T* ATTIVATI
LINFOCHINE
LINFOCITI *B* ATTIVATI (PLASMACELLULE)
ANTICORPI

Come il sistema immunitario difende l'organismo

L'organismo è protetto da un esercito ben differenziato di cellule e molecole che lavorano di concerto. Il bersaglio ultimo delle risposte immunitarie è l'antigene, che di solito è una molecola estranea appartenente a un batterio o a un altro invasore. Le cellule che presentano l'antigene, come i macrofagi, percorrono l'organismo ingerendo gli antigeni che trovano e frammentandoli in peptidi antigenici. Pezzi di questi peptidi vengono uniti alle molecole del maggior complesso di istocompatibilità (MHC), detto anche complesso principale di istocompatibilità, ed esibiti sulla superficie della cellula. Gli altri leucociti del sangue, noti come linfociti *T*, portano recettori che mettono in grado ciascuno di essi di riconoscere una diversa combinazione peptide-MHC. Le cellule *T* attivate dal riconoscimento si dividono e secernono linfochine, segnali chimici che mobilitano altre componenti del sistema immunitario. Un insieme di cellule che rispondono a questi segnali comprende i linfociti *B*, i quali portano anch'essi sulla loro superficie recettori dotati di una particolare specificità. Diversamente dai recettori delle cellule *T*, tuttavia, quelli delle cellule *B* possono riconoscere parti di antigeni liberi in soluzione, non legati a molecole MHC. Quando vengono attivati, i linfociti *B* si dividono e si differenziano in plasmacellule che secernono anticorpi, proteine che sono la forma solubile dei loro recettori. Legandosi agli antigeni che trovano, gli anticorpi possono neutralizzarli o favorirne la distruzione da parte degli enzimi del complemento o delle cellule spazzine. Alcuni linfociti *T* e *B* diventano cellule memoria, che persistono nel circolo sanguigno e rendono il sistema immunitario più pronto a eliminare lo stesso antigene qualora si ripresenti in futuro. Poiché i geni per gli anticorpi delle cellule *B* mutano frequentemente, la risposta anticorpale migliora dopo ripetute immunizzazioni.

di un virus alla cellula ospite, sono il risultato di periodi lunghissimi di tempo evolutivo, che hanno perfezionato gli aspetti chimici di tali interazioni di modo che ogni molecola si unisca con la sua controparte in modo predeterminato e preciso. Il sistema immunitario, per contro, non può sapere in anticipo con quale molecola estranea dovrà confrontarsi a ogni istante successivo.

Uno degli elementi cruciali che aiutano il sistema immunitario ad affrontare questa sfida è l'anticorpo, una proteina di grandi dimensioni scoperta nel 1890 da Emil von Behring e Shibasaburo Kitasato. Gli anticorpi si agganciano agli invasori estranei come batteri e virus, e li neutralizzano; essi rivestono altresì i microrganismi in modo tale da renderli appetibili alle cellule spazzine, come i macrofagi. Ogni tipo di anticorpo agisce solo su una molecola bersaglio molto specifica, l'antigene; conseguentemente, gli anticorpi che attaccano i bacilli del carbonchio non hanno alcun effetto contro quelli del tifo. Per decenni i biologi pensarono che l'antigene funzionasse come uno stampo intorno a cui la molecola di anticorpo si plasmava per assumere una forma complementare. Questa teoria, esposta chiaramente per la prima volta da Felix Haurowitz negli anni trenta e in seguito sostenuta da Linus Pauling, dominò la scena dell'immunologia teorica sino a circa il 1960.

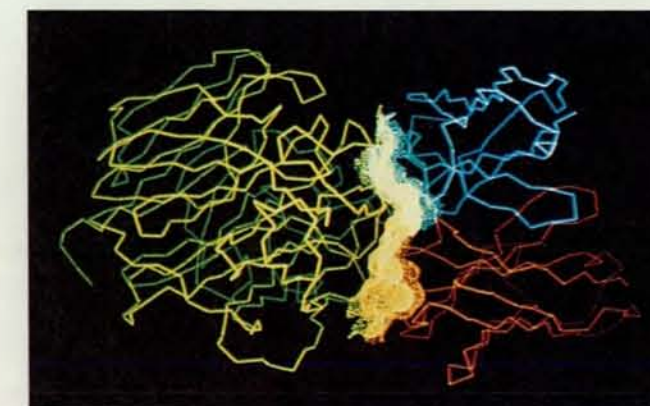
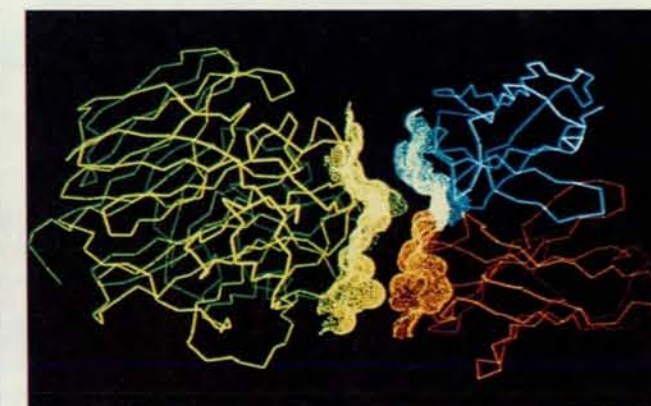
A metà degli anni sessanta il modello dello stampo antigenico era insostenibile. Gordon L. Ada dello Hall Institute e io dimostrammo che le cellule che producono l'anticorpo non contengono alcun antigene attorno a cui l'anticorpo possa prendere forma. Le ricerche sugli enzimi indicarono che la struttura di una proteina dipende soltanto dalla particolare sequenza degli amminoacidi che la compongono. Oltre a ciò, Francis Crick scoprì che, nei sistemi biologici, l'informazione è trasmessa dal DNA all'RNA alle proteine. Per questa ragione, le proteine antigeniche non possono definire nuove proteine anticorpali: l'informazione per le strutture anticorpali deve essere codificata nei geni. Queste scoperte sollevarono un imbarazzante quesito: se sono i geni a regolare la sintesi degli anticorpi, come possono esserci geni specifici per ognuno dei milioni di anticorpi che l'organismo è in grado di fabbricare?

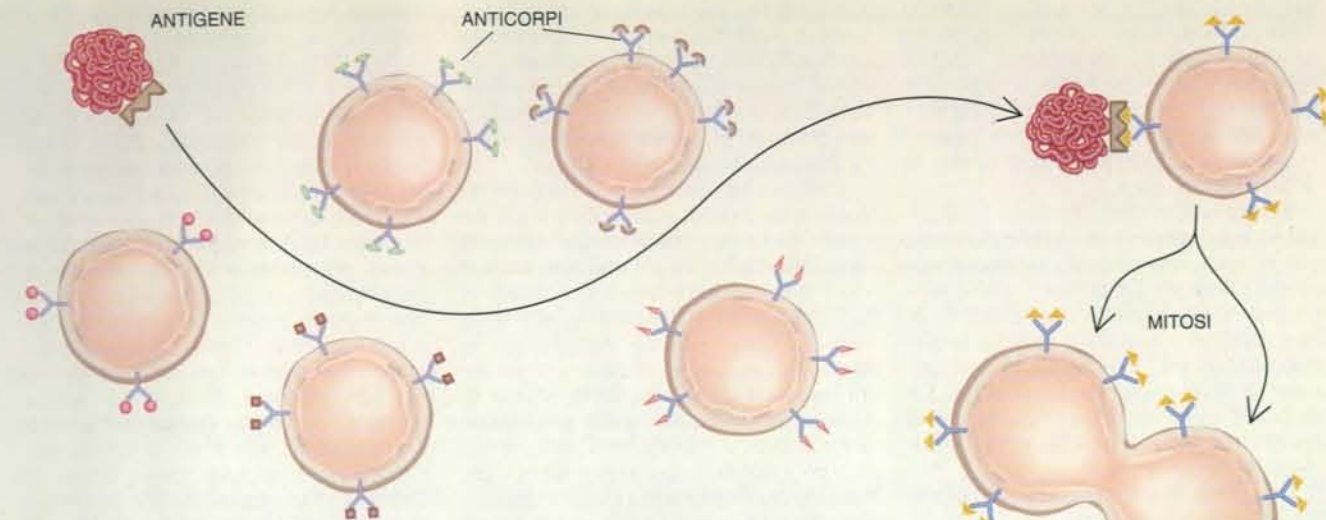
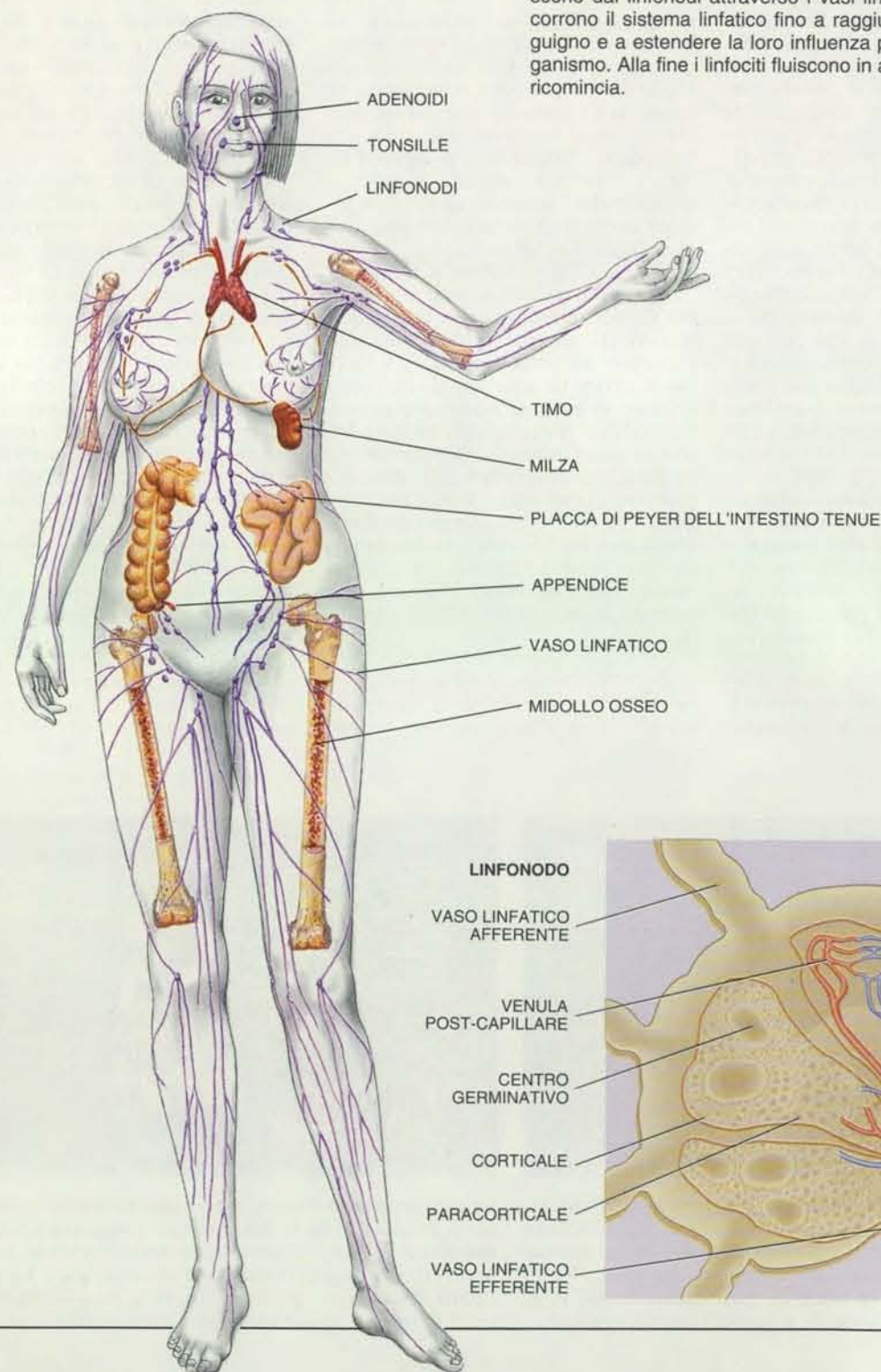
Nel 1955 Niels K. Jerne, che allora si trovava al California Institute of Technology, aveva già escogitato una possibile spiegazione dell'incredibile diversità degli anticorpi. Egli aveva avanzato l'ipotesi che la risposta immunitaria sia basata su un processo di selezione anziché su uno di istruzione, vale a dire che i mammiferi possiedano la capacità innata di sintetizzare miliardi di anticorpi diversi e che l'arrivo di un antigene acceleri soltanto la formazione dell'anticorpo che gli si adatta meglio.

Due anni dopo Burnet e David W. Talmage, quest'ultimo dell'Università del Colorado, ipotizzarono indipendentemente che gli anticorpi si trovino sulla superficie dei linfociti e che ogni linfocita trasporti un solo tipo di anticorpo. Quando un antigene estraneo entra nell'organismo, prima o poi incontra un linfocita con un recettore complementare e lo stimola chimicamente a dividersi e a produrre grandi quantità dell'anticorpo pertinente. Nel 1958 Joshua Lederberg, allora allo Hall Institute, e io dimostrammo che quando un animale viene immunizzato con due antigeni diversi, ogni linfocita produce di fatto soltanto un tipo di anticorpo.

Poco dopo Gerald M. Edelman della Rockefeller University e Rodney R. Porter dell'Università di Oxford scoprirono che gli anticorpi sono composti di quattro piccole catene proteiche: ogni anticorpo possiede due identiche catene pesanti e due identiche catene leggere. Una catena leggera e una pesante avvolte insieme formano un sito attivo in grado di riconoscere un antigene, sicché ogni molecola di anticorpo ha due siti di riconoscimento identici. Sapere che due catene contribuiscono a formare il sito di legame aiuta a spiegare la grande diversità degli anticorpi in quanto è possibile un gran numero di combinazioni.

Una serie di esperimenti avviati da Susumu Tonegawa dell'Istituto di immunologia di Basilea portò alla descrizione definitiva di come il sistema immunitario possa produrre tanti tipi diversi di anticorpi. Egli scoprì che, diversamente da quasi tutti gli altri geni dell'organismo, quelli che codificano per le catene pesanti non preesistono nell'uovo fecondato; il codice risiede invece in quattro serie di minigeni localizzati in parti del nucleo che sono fra loro molto distanti. La diversità anticorpale scaturisce dall'ampiezza di queste famiglie di minigeni: ci sono più di 100 tipi di geni V (variabili), 12 di geni D (diversità) e 4 di geni J (*joining*, giunzione). I geni C, o costanti, variano in un modo che interessa solo la funzionalità dell'anticorpo, non la sua affinità per l'antigene.

Durante lo sviluppo di una cellula anticorpo-poietica, una componente di ogni insieme di minigeni lascia la sua posizione originale e si lega con altri elementi formando in questo modo un gene completo V-D-J-C. Questo riarrangiamento genico può dare origine a 4800 ($100 \times 12 \times 4 \times 1$) diverse varietà di catene pesanti. Lo stesso processo avviene nell'assemblaggio dei geni per le catene leggere, a parte il fatto che questi hanno solo i segmenti C, J e V, così che vi sono circa 400 combinazioni fondamentali di questi minigeni. La diversità delle catene pesanti e leggere consente l'esistenza

L'antigene e l'anticorpo si adattano perfettamente l'uno all'altro, come due mani che si stringono. Questa simulazione al calcolatore, basata su dati raccolti mediante cristallografia a raggi X da Peter M. Colman e William R. Tulip del CSIRO di Melbourne, mostra un antigene proveniente da un virus dell'influenza (*lato sinistro delle immagini*) che interagisce con un anticorpo (*lato destro*); il processo avviene sulla superficie di un linfocita *B*. Se le due molecole vengono separate fino a una distanza di 0,8 nanometri diventano evidenti le loro superfici complementari (*nella seconda immagine*). La parte variabile della catena proteica pesante è rappresentata in rosso; la parte corrispondente della catena leggera appare in blu.

Le difese immunitarie decentrate

Poiché gli agenti infettivi possono entrare nell'organismo in ogni punto, i tessuti e gli organi del sistema linfatico - la sorgente della difesa immunitaria - sono ampiamente disseminati. I linfociti, che sono responsabili dell'immunità specifica, nascono negli organi linfatici primari: il timo produce i linfociti *T* e il midollo osseo i linfociti *B*. Dopo aver lasciato questi organi, i linfociti circolano nel sangue fino a quando raggiungono uno dei numerosi organi linfatici secondari, come i linfonodi, la milza e le tonsille. Escono poi dal circolo sanguigno attraverso vasi sanguigni specializzati, le venule post-capillari. Sebbene i linfociti si ammassino piuttosto fittamente (ogni grammo di linfonodo ne contiene un miliardo), essi possono ancora muoversi liberamente. Di conseguenza i linfonodi sono siti in cui i linfociti possono essere attivati con facilità dagli antigeni e dalle cellule che presentano l'antigene, che entrano attraverso i vasi linfatici afferenti. In genere i linfociti *T* si attivano nella paracorticale; i linfociti *B* attivati diventano plasmacellule secernenti anticorpi in aree quali i centri germinativi dei follicoli linfatici. I linfociti attivati fuoriescono dai linfonodi attraverso i vasi linfatici efferenti e percorrono il sistema linfatico fino a raggiungere il circolo sanguigno e a estendere la loro influenza protettiva in tutto l'organismo. Alla fine i linfociti fluiscono in altri linfonodi e il ciclo ricomincia.

La selezione clonale consente al sistema immunitario di reagire a una miriade di possibili agenti patogeni. Linfociti che portano sulla loro superficie uno fra milioni di anticorpi diversi vagano di continuo all'interno dell'organismo. Quando l'antigene presente sulla superficie di un'entità estranea incontra un linfocita che trasporta l'anticorpo corrispondente (*sopra*), il linfocita si ingrossa e comincia a dividersi (*a destra*). Una volta raggiunta la maturità, le cellule *B* secernono anticorpi che attaccano l'invasore (*in basso*), mentre le cellule *T* secernono linfochine, fattori chimici che fanno aumentare l'attività di altre cellule del sistema immunitario.

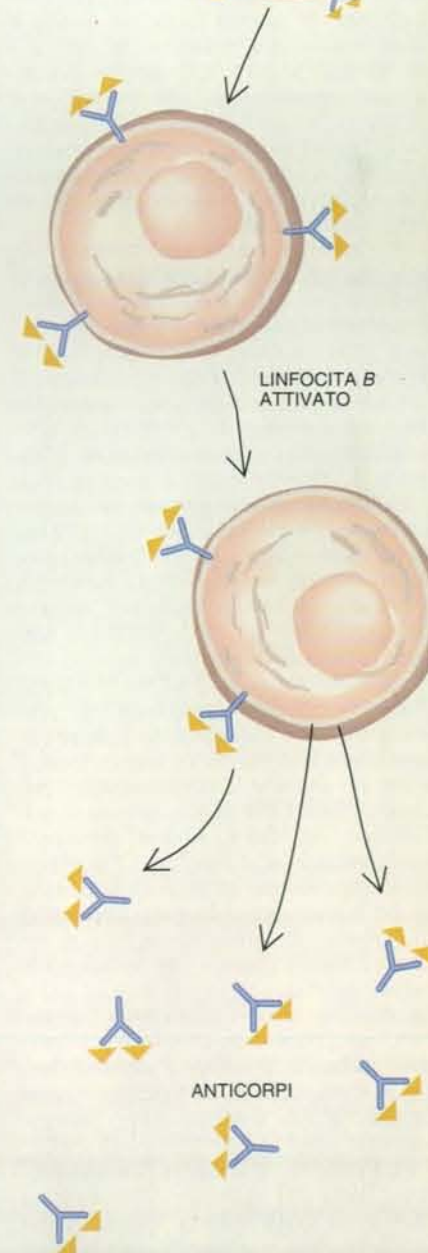
di 4800 × 400, ovvero 1 920 000 geni per gli anticorpi. Inoltre enzimi speciali possono inserire alcune unità in più di DNA codificante alle giunzioni tra i segmenti V e D o D e J quando essi si legano insieme, il che incrementa ulteriormente il numero di anticorpi diversi che possono essere ottenuti.

Malgrado la loro enorme versatilità, gli anticorpi da soli non possono fornire una protezione completa dalle infezioni. Nel caso di malattie come la tubercolosi, i bacilli penetrano nelle cellule ospiti così velocemente da riuscire a eludere le molecole anticorpali. In questi casi entra in gioco una seconda forma di risposta. Quando le cellule infettate si infiammano, i linfociti le attaccano in modo da confinare l'infezione. Questo meccanismo di difesa è noto come immunità mediata da cellule, in contrasto con l'immunità cosiddetta umorale, mediata dagli anticorpi.

All'inizio degli anni sessanta Jacques F. A. P. Miller, che allora si trovava al Chester Beatty Research Institute di Londra, e Noel L. Warner e Aleksander Szenberg dello Hall Institute stabilirono che i linfociti rientrano in due diverse classi, ognuna delle quali controlla uno dei due tipi di risposta immunitaria. L'immunità mediata da cellule coinvolge un tipo di linfocita che ha origine nel timo e per questo viene chiamato cellula *T*. L'immunità umorale è mediata dall'azione degli anticorpi, prodotti dai linfociti noti come cellule *B* che si formano nel midollo osseo (*bone marrow*).

Le cellule *T* e le cellule *B* differiscono non solo per la loro funzione, ma anche per il modo in cui esse localizzano l'invasore estraneo. Come ipotizzarono Talmage e Burnet, le cellule *B* possono riconoscere gli antigeni in quanto trasportano anticorpi sulla loro superficie. Anche ciascun linfocita *T* possiede un particolare recettore ma, diversamente dalle cellule *B*, le cellule *T* non possono «vedere» l'intero antigene. I recettori situati sulla loro superficie riconoscono invece frammenti di proteine degli antigeni, o peptidi, sequenze lineari che possono comprendere da otto a 15 amminoacidi. I linfociti *T* identificano, sulla superficie delle cellule dell'organismo, sequenze peptidiche estranee, incluse parti di virus, molecole mutate nelle cellule tumorali o anche sezioni dell'interno di un microrganismo. Una proteina del maggior complesso di istocompatibilità, o, come alcuni preferiscono, complesso principale di istocompatibilità (MHC), porta il peptide alla superficie cellulare, dove le cellule *T* possono legarsi a esso.

I linfociti *T* e gli anticorpi funzionano come partner perfetti. Gli anticorpi rispondono prontamente alle molecole di tossine e alle superfici esterne dei microrganismi; i linfociti *T* scovano gli antigeni dei patogeni nascosti internamente alle cellule, il che li rende particolarmente efficaci nello snidare gli agenti infettivi. Per esempio, un virus potrebbe essere in grado, per mutazione, di cambiare rapidamente il proprio involucro esterno e in questo modo eludere la neutralizzazione da parte degli anticorpi. Lo stesso virus potrebbe contenere all'interno del capside diverse proteine che sono così essenziali per il suo sviluppo vitale da non poter subire alcuna mutazio-

ne. Quando il virus si replica all'interno della cellula, brevi catene peptidiche provenienti da queste proteine virali si spezzano e migrano verso la superficie cellulare. Questi peptidi sono ottimi bersagli per i linfociti *T*, che possono quindi attaccare le cellule infettate e inibire la diffusione del virus.

Finora ho descritto i linfociti *T* e *B* come se essi agissero indipendentemente, ma di fatto formano un sistema fortemente integrato. Le cellule *T* stabiliscono uno stretto contatto con le cellule *B*, le stimolano a uno stato attivo e secernono linfochine, molecole che promuovono la formazione degli anticorpi. Le cellule *T* possono altresì sopprimere la formazione di anticorpi liberando linfochine inibitrici.

Le cellule *B*, a loro volta, rielaborano gli antigeni in una forma a cui le cellule *T* possono rispondere più prontamente: agganciano gli antigeni alle molecole MHC e li presentano sulla superficie cellulare. In questo modo, le cellule *B* contribuiscono a stimolare le cellule *T* all'attività. Si è anche osservato, in condizioni sperimentali, che le cellule *B* possono inibire le risposte delle cellule *T*. Questi cicli di retroazione positiva e negativa altamente regolati sono una caratteristica dell'organizzazione del sistema immunitario.

La specializzazione del sistema immunitario non finisce con la divisione in linfociti *B* e *T*. Le stesse cellule *T* comprendono due sottopopolazioni, le cellule *T* CD4 (*helper*) e le cellule *T* CD8 (*killer*). I linfociti CD4 riconoscono i peptidi di proteine che sono state inglobate dai macrofagi e da altre cellule specializzate nel catturare l'antigene. I linfociti CD8 reagiscono a esemplari di peptidi che hanno origine all'interno stesso di una cellula, come un segmento di un virus in una cellula infettata o proteine mutanti in una cellula tumorale. Ciascuna varietà di linfocita *T* utilizza una particolare forma di MHC per rendere riconoscibili i peptidi.

Quando le cellule *T* CD4 incontrano il segnale chimico appropriato, esse producono grandi quantità di linfochine per accelerare la divisione di altri linfociti *T* e per promuovere l'infiammazione. Alcune cellule CD4 si specializzano nell'aiutare i linfociti *B*, altre nel provocare l'infiammazione. Le cellule CD8 attivate producono una quantità di linfochine molto minore, ma sviluppano la capacità di perforare le cellule bersaglio e di secernere fattori chimici che uccidono le cellule infettate, limitando così la diffusione di un virus. A causa della loro natura «assassina», le cellule CD8 sono note anche come cellule *T* citotossiche.

Un volta attivate, le cellule *B* vanno incontro a una trasformazione particolarmente sorprendente. Prima di incontrare l'antigene il linfocita *B* è una piccola cellula con un nucleo compatto e un citoplasma molto ridotto. Quando entra in azione, essa si divide ripetutamente e allestisce nel suo citoplasma migliaia di punti di assemblaggio per la fabbricazione di anticorpi, oltre che un esteso sistema di trasporto per imballare ed esportare gli anticorpi. Una singola cellula *B* può pompare all'esterno più di 10 milioni di molecole anticorpali all'ora.

I miei collaboratori e io coltiviamo regolarmente una singola cellula *B* per ottenere un clone comprendente centinaia di cellule figlie. Dopo una settimana, i cloni possono generare 100 miliardi di molecole anticorpali identiche pronte da studiare. Queste colture clonali ci hanno messo in condizione di osservare un'altra notevole proprietà delle cellule *B*. Esse possono passare dalla produzione di un isotipo, o varietà funzionale, di anticorpo a un altro senza che cambi l'antigene a cui l'anticorpo si lega. Ogni isotipo di un anticorpo deriva da una forma diversa del minigene C.

Ciascun isotipo anticorpale ha il suo peculiare vantaggio. Uno serve come prima linea di difesa; un altro si specializza nel neutralizzare tossine; un terzo diffonde nel muco e così contribuisce a formare una barriera contro gli agenti infettivi che tentano di entrare attraverso il naso, la gola e l'intestino. In risposta alle linfochine prodotte dalle cellule *T* le cellule *B* possono commutare da un isotipo anticorpale a un altro nell'arco di un giorno circa.

Sia i linfociti *B* sia i linfociti *T* ricevono aiuto da varie altre cellule e molecole. Quando gli anticorpi attaccano un batterio, essi possono attivare il complemento, una classe di enzimi che uccide i batteri distruggendone la membrana esterna. Alcune linfochine inviano un segnale chimico ai macrofagi, ai granulociti e ad altri leucociti la cui funzione è di mettere ordine in un sito di infezione ingurgitando germi e cellule morte. Questa operazione di pulizia è di enorme importanza: un paziente che manchi di granulociti va incontro al grave rischio di morte dovuta ai batteri infettivi che si alimentano sui corpi cellulari. Chiaramente, tutti i leucociti lavorano insieme come una squadra ben affiatata.

Fra tutte le complesse operazioni delle difese immunitarie, è assolutamente cruciale che i linfociti siano costantemente benigni nei confronti delle cellule dell'organismo, a cui ci si riferisce comunemente come «sé» (*self*), reagendo invece aggressivamente contro quelle che riconoscono come estranee, o «non sé». Burnet ipotizzò che l'autoriconoscimento non sia geneticamente determinato, ma venga invece appreso dal sistema immunitario durante lo sviluppo embrionale dell'organismo. Egli suppose che un antigene estraneo introdotto in un embrione prima che il sistema immunitario si sia sviluppato ingannerebbe i linfociti, inducendoli a considerare le molecole estranee come sé. Burnet tentò di provare la sua teoria inoculando un vaccino antinfluenzale in embrioni di pollo, ma non riuscì a indurre quell'assenza di risposta che si aspettava.

Nel 1953 Rupert E. Billingham, Leslie Brent e Sir Peter B. Medawar, che allora si trovavano all'University College di Londra, riuscirono dove Burnet aveva fallito. Essi stavano studiando tecniche di trapianto della cute da un individuo all'altro, allo scopo, per esempio, di curare le vittime di ustioni. Medawar aveva già scoperto che l'organismo rigetta questi trapianti cutanei a causa di una risposta immunitaria. Ispirati dagli scritti teorici di Burnet, Medawar e colleghi inocularono, in embrioni di topi nati dall'incrocio di individui strettamente imparentati, cellule della milza provenienti da topi di un ceppo diverso. Alcuni embrioni morirono a causa del trauma subito, ma quelli che sopravvissero sino allo stadio adulto accettarono i trapianti di cute dal ceppo donatore. Una chiazza nera cresciuta nella pelliccia di un topo bianco mise in luce con grande evidenza la scoperta della tolleranza immunologica acquisita attivamente; per la prima volta i linfociti erano stati raggirati e convinti a riconoscere il non sé come sé. Burnet e Medawar condivisero il Nobel nel 1960 per le loro ricerche.

Studi successivi chiarirono perché l'esperimento di Burnet non fosse andato in porto. Il gruppo di Medawar aveva utilizzato cellule vive come sorgente di antigeni, in particolare cellule che potevano dirigersi verso sedi critiche come il timo e il midollo osseo. Fino a quando le cellule donatrici rimasero in vita, continuarono a produrre antigeni che influenzavano i linfociti emergenti. Il vaccino antinfluenzale di Burnet, d'altro canto, era stato rapidamente consumato e decomposto dalle cellule spazzine, cosicché il sistema immunitario non era stato raggiunto da una quantità di antigene sufficiente a indurre un grado significativo di tolleranza.

La scoperta che la risposta immunitaria dipende in larga misura dalla grande diversità di anticorpi delle innumerevoli cellule *B* dell'organismo indicava il meccanismo attraverso cui i linfociti imparano a ignorare le cellule del sé. Una reazione immunitaria rappresenta l'attivazione di linfociti specifici selezionati dall'ampio repertorio posseduto dall'organismo. Appare del tutto logico considerare la tolleranza del sé come l'immagine speculare dell'immunità: l'eliminazione sistematica di quei linfociti che rispondono ad autoantigeni.

Influenze genetiche e fattori ambientali possono determinare il fallimento delle normali regole immunologiche. In quei casi le cellule *B*, o le cellule *T*, o entrambe possono rispondere ad autoantigeni, aggredendo le cellule stesse dell'organismo e causando malattie autoimmuni devastanti. Alcune di queste patologie sono causate da anticorpi maldiretti: nell'anemia emolitica gli anticorpi attaccano gli eritrociti, mentre nella miastenia grave assalgono una proteina delle cellule muscolari che riceve segnali dai nervi. Le cellule *T* hanno il ruolo del «cattivo» in altre malattie autoimmuni: nel diabete insulino-dipendente i linfociti *T* distruggono le cellule del pancreas che producono l'insulina, e nella sclerosi multipla esse attaccano la guaina isolante che circonda le fibre nervose nel cervello e nel midollo spinale.

Il linfocita *B* a riposo è poco più di un nucleo circondato da un sottile rivestimento citoplasmatico (*a sinistra*). Una volta incontrato l'antigene corrispondente, la cellula *B* sviluppa un corpo espanso (*al centro*) contenente poliribosomi, che fabbricano anticorpi, e un elaborato sistema di passaggio per questi anticorpi. I linfociti *T* possono regolare il comportamento delle cellule *B* fornendo loro linfochine attraverso una giunzione ravvicinata, in qualche modo simile a una sinapsi nervosa (*a destra*).

Il trattamento delle malattie autoimmuni richiede la soppressione o almeno il contenimento dell'attività del sistema immunitario. I farmaci immunosoppressivi e antinfiammatori possono essere efficaci, ma un metodo così brutale può sopprimere anche tutte le reazioni immunitarie desiderabili. Fortunatamente si stanno facendo progressi verso l'obiettivo di ristabilire la tolleranza immunologica specifica agli autoantigeni sottoposti ad attacco.

Una di queste terapie comporta la somministrazione per via orale di grandi quantità dell'autoantigene che viene attaccato; per quanto possa apparire sorprendente, tale metodo può limitare selettivamente la risposta futura a quell'antigene. Risultati simili sono stati ottenuti somministrando gli antigeni per via endovenosa mentre le cellule *T* venivano momentaneamente accecate da anticorpi monoclonali che bloccavano i loro recettori per l'antigene. Alcuni trattamenti per le malattie autoimmuni basati su questi principi hanno raggiunto lo stadio della sperimentazione clinica.

Anche nei trapianti di organo è necessario bloccare un aspetto indesiderato della risposta immunitaria. In linea di principio, il chirurgo può cominciare a somministrare farmaci immunosoppressivi al momento dell'operazione, per prevenire un attacco linfocitario. La maggior parte dei trapianti di organo provoca una risposta così forte da parte dei linfociti *T* che le dosi di farmaci necessarie a prevenire il rigetto dell'organo sono perfino superiori alle dosi usate per trattare le malattie autoimmuni. Fortunatamente questi livelli possono essere ridotti dopo pochi mesi. Nuovi e più potenti farmaci immunosoppressivi stanno migliorando la percentuale di successi nei trapianti di rene, cuore, fegato, midollo osseo, cuore-polmoni e pancreas; recentemente è stato possibile far attecchire alcuni trapianti di intestino tenue. Si stanno anche cercando di sviluppare farmaci «mirati» in grado di sopprimere il rigetto dell'organo lasciando l'organismo ancora in grado di reagire alle malattie infettive.

I trapianti hanno raggiunto una tale frequenza che i medici spesso si trovano di fronte a una carenza di organi provenienti da donatori appena deceduti; si stanno quindi rinnovando gli sforzi per arrivare allo xenotrapianto, cioè al trapianto di organi da animali donatori. Il tessuto ricavato dalle ghiandole endocrine può essere coltivato in modo da perdere parte della sua forza antigenica, il che potrebbe un giorno consentire di trapiantare nei diabetici cellule secernenti insulina ottenute da maiali. Trattamenti chimici possono riuscire a «umanizzare» molecole cruciali negli organi animali così da attenuare l'intensità del rigetto immunitario. Nondimeno, lo xenotrapianto si trova a dover fronteggiare ostacoli di natura tecnica ed etica.

Le aggressioni immunologiche ai tessuti dell'organismo non sono necessariamente nocive: anzi, di fatto potrebbero essere benefiche se dirette contro i tumori. Per la verità, una teoria controversa - quella della sorveglianza immunitaria, enunciata per primo da Lewis Thomas quando si trovava alla New York University - sostiene che l'eliminazione delle cellule pretumorali sia uno dei doveri primari dei linfociti che perlustrano in continuazione l'organismo.

Le persone il cui sistema immunitario è stato soppresso da farmaci - la maggior parte delle quali ha ricevuto un trapianto di organo - di fatto presentano, non molto tempo dopo il trapianto, un'incidenza più alta di leucemie, linfomi e tumori della pelle rispetto a quanto accade in individui simili nella popolazione generale. Dopo tre decenni di osservazioni su pazienti che avevano ricevuto trapianti di rene, si è trovato che anche questi individui sono soggetti a un certo aumento della suscettibilità nei confronti di molti tumori comuni, come quelli del polmone, della mammella, del colon, dell'utero e della prostata. Ciò indica che la sorveglianza immunitaria può tenere in scacco almeno certi tumori. In alternativa, i tumori associati a farmaci possono essere il risultato di qualche meccanismo diverso dall'immunosoppressione.

Ulteriori prove a favore del ruolo del sistema immunitario nel prevenire il cancro vengono da studi sui tumori del topo indotti da virus o da carcinogeni chimici. Questi tumori spesso provocano una forte risposta immunitaria se vengono trapiantati in topi geneticamente identici, a dimostrazione del fatto che le cellule tumorali trasportano antigeni che le marcano come anomale. I tumori che insorgono spontaneamente nel topo, e che sono verosimilmente più affini ai tumori umani, provocano invece una ri-

sposta immunitaria scarsa o inesistente.

Anche i tumori spontanei possono tuttavia trasportare antigeni specifici i quali provocano una reazione da parte del sistema immunitario se sono presenti altri segnali chimici. Una molecola «innesco» denominata B7 è estremamente potente: quando viene inserita nelle cellule tumorali, essa può convertirle in una forma che viene aggredita e distrutta dalle cellule *T*. La B7 non è di per sé un antigene, ma evidentemente aiuta le molecole antigeniche del tumore ad attivare i linfociti *T*.

La scoperta di molecole immunostimolanti come B7 ha risvegliato l'interesse per la possibilità di sviluppare vaccini antitumorali. Tali trattamenti potrebbero essere efficaci contro il melanoma maligno, il cancro che trae origine dai nei pigmentati. Questi tumori contengono una famiglia di proteine, nell'insieme chiamate MAGE, che sono state estesamente studiate da Thierry Boon del Ludwig Institute for Cancer Research di Bruxelles. Esperimenti di laboratorio hanno dimostrato che un peptide derivato da MAGE può provocare un energico attacco da parte delle cellule *T* citotossiche. Se si potesse imparare a manipolare in modo adeguato l'antigene - forse iniettando nel paziente proteine MAGE o loro costituenti peptidici insieme con molecole destinate a rafforzare l'immunità - si potrebbe ottenere una efficace terapia del melanoma.

Un altro modo per combattere i tumori implica un rafforzamento della risposta immunitaria verso forme aberranti di una classe di proteine conosciute come mucine. Le mucine normali sono costituite da un «nocciolo» proteico quasi completamente avviluppato da un guscio di molecole glucidiche. Molte cellule tumorali, principalmente quelle associate a tumori dell'apparato gastrointestinale, del polmone o delle ovaie, contengono mucine alterate che espongono i loro noccioli proteici. Si sono identificati i peptidi di queste proteine ai quali le cellule *T* rispondono intensamente; vaccini preparati a partire da questi peptidi potrebbero indurre i linfociti *T* citotossici ad attaccare le proteine esposte e uccidere le cellule tumorali.

Mettere a punto vaccini per il cancro rappresenta una sfida difficile. Le cellule tumorali hanno una grande capacità di mutare che consente loro di evitare la distruzione eliminando o modificando i loro antigeni caratteristici. Uccidere ogni cellula tumorale, come si deve fare per curare il cancro, non sarà facile nei casi di tumori avanzati. Purtuttavia i vaccini sperimentali hanno dato promettenti segni di successo. In test su pazienti che avevano diverse forme di cancro disseminato, come melanoma, cancro del rene e certe forme di leucemia, si è visto che circa un quinto dei soggetti andava incontro a una vistosa regressione del tumore in risposta a questi vaccini. Si sa ben poco delle ragioni per cui in quelle persone si è verificata una risposta e nelle altre no.

Molti ritengono che i vaccini per il cancro avranno soprattutto il ruolo di armi da utilizzare contro le poche cellule neoplastiche che persistono nell'organismo dopo l'intervento chirurgico, la chemioterapia o la radioterapia. Queste cellule che sopravvivono possono determinare la ricorrenza del tumore anche dopo una terapia primaria apparentemente coronata da successo. In teoria, uccidere i pochi milioni di cellule tumorali che rimangono dopo un trattamento antitumorale dovrebbe essere più facile che eliminare le centinaia di miliardi di cellule esistenti precedentemente.

Malgrado le promesse di queste tecniche innovative, l'applicazione più urgente e immediata della ricerca immunologica continua a essere la preparazione di vaccini nuovi e migliori contro le malattie infettive. In questo campo l'Expanded Program on Immunization (EPI) dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) si è distinto positivamente nella situazione generalmente dissestata della sanità pubblica mondiale. Con il lodevole sostegno dell'UNICEF, della Banca mondiale, del Rotary International e delle autorità sanitarie dei paesi in via di sviluppo, l'EPI fornisce protezione da sei gravi malattie - difterite, pertosse, tetano, poliomielite, morbillo e tubercolosi - a oltre l'80 per cento degli oltre 100 milioni di bambini che nascono ogni anno nel Terzo Mondo.

L'anno scorso l'EPI ha aggiunto al proprio elenco il vaccino per l'epatite B, sebbene considerazioni sui costi abbiano limitato il numero di dosi disponibili. In molti paesi asiatici e africani il 5-10 per cento della popolazione diventa portatore cronico del virus dell'epatite B; una

Le cellule tumorali possono eludere l'attacco dei linfociti anche se trasportano antigeni tipici. Questa assenza di risposta immunitaria è possibile perché la cellula tumorale manca di adeguate molecole costimolatrici. Si sta tentando di indurre l'organismo a combattere i tumori inserendo la molecola B7 nelle cellule tumorali. Quando B7 impegna CD28, una molecola complementare sulla superficie dei linfociti *T*, essa genera un segnale che scatena un attacco alle cellule tumorali.

porzione significativa di queste persone va incontro a una grave patologia epatica e infine al cancro del fegato. Un bambino che riceve il vaccino alla nascita non diventa portatore ed è protetto dal virus. La vaccinazione di massa contro l'epatite B sarebbe valida anche nei paesi occidentali, non solo a causa dei rischi che corrono i maschi omosessuali, ma anche perché molte di queste nazioni oggi includono una parte significativa di popolazione proveniente da paesi asiatici o africani.

Per quanto le tendenze siano incoraggianti, molto resta da fare nel campo dell'immunizzazione. Vaccini efficaci contro diverse forme di meningite non sono ancora di uso comune; i vaccini disponibili contro il tifo, il colera, la tubercolosi e l'influenza sono solo parzialmente efficaci; nessun vaccino è disponibile in generale per molte malattie comuni, come polmonite, diarrea, malaria e tumori causati dal virus del papilloma umano e dal virus della mononucleosi infettiva. Inoltre, paesi ricchi e paesi poveri si trovano ugualmente di fronte ai problemi pratici di distribuire il vaccino a coloro che ne hanno bisogno e di accertarsi che venga utilizzato. L'Organizzazione mondiale della sanità ha estremo bisogno di ulteriori fondi per sostenere il suo grande impegno nei settori della ricerca e dell'impiego di vaccini.

Mettere a punto un vaccino contro l'AIDS è uno dei compiti più urgenti e impegnativi di fronte ai quali si trovano gli immunologi. Oggi nel mondo ci sono almeno 10 milioni di persone infettate dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV), che causa l'AIDS, e la maggior parte di queste persone vive nei paesi in via di sviluppo. L'HIV manifesta una vertiginosa capacità di mutare, e può nascondersi al sistema immunitario entrando nei linfociti e nelle cellule spazzine. Tuttavia ci sono segnali incoraggianti che il virus può essere sconfitto. Esso rimane spesso quiescente nell'uomo per anni, il che fa pensare che i processi immunitari tengano il virus in scacco per un lungo periodo. Gli anticorpi possono neutralizzare l'HIV, e i linfociti *T* citotossici possono uccidere almeno alcune delle cellule che trasportano il virus; inoltre sono stati preparati vaccini in grado di prevenire infezioni simili all'AIDS nelle scimmie. Saranno necessari diversi anni, comunque, per stabilire se qualcuno degli esperimenti clinici attualmente in corso possa dare risultati concreti.

La pandemia di AIDS ha accresciuto a tal punto la consapevolezza dell'opinione pubblica nei confronti dell'immunologia che, quando partecipo a ricevimenti o a riunioni d'affari e rivelo che sono un immunologo, in genere mi sento dire: «Oh, allora lei deve occuparsi di AIDS!» I miei interlocutori rimangono spesso sorpresi quando rispondo che l'immunologia è una scienza vasta, che precede di molti decenni l'identificazione dell'AIDS.

Emil A. von Behring (*a destra*) studiò gli effetti delle antitossine che compaiono nel circolo sanguigno dopo un'infezione. Gli esperimenti condotti da von Behring sull'immunità inducibile in animali di laboratorio portarono alla messa a punto di un siero anticorpale per prevenire la difterite. Come riconoscimento per quella ricerca, egli ricevette nel 1901 il primo premio Nobel per la fisiologia o la medicina.

E tuttavia la natura interdisciplinare dell'immunologia ha avuto, io credo, un effetto significativo e salutare su tutte le scienze biologiche. Quando ero giovane, molti ricercatori si preoccupavano del fatto che, via via che fiorivano specializzazioni e sottospecializzazioni, gli scienziati avrebbero scoperto sempre di più su questioni sempre più piccole, così che l'impresa della ricerca si sarebbe frantumata in una miriade di frammenti, ciascuno brillante e luminoso, ma quasi senza rapporto con gli altri.

È emersa invece una nuova biologia integrata, costruita sulle fondamenta della biologia molecolare, della chimica delle proteine e della biologia cellulare, che racchiude settori tanto diversi come la neurobiologia, la biologia dello sviluppo, l'endocrinologia, l'oncologia e la fisiologia cardiovascolare. Una scoperta fondamentale realizzata nell'ambito di una disciplina si diffonde come un lampo in tutte le altre.

L'immunologia sta al centro di questo processo. Le cellule del sistema immunitario costituiscono uno strumento ideale per la ricerca biologica di base. Esse crescono facilmente in coltura, manifestano una grande diversità di recettori chimici e sintetizzano molecole di grande specificità e potenza; di conseguenza, il linfocita è forse la cellula vivente meglio conosciuta. Inoltre l'immunologia abbraccia molti sistemi cellulari e molecolari interdipendenti ed esamina in che modo essi influenzino l'attività dell'organismo nel suo insieme. Per questi motivi il sistema immunitario è diventato un modello euristico dei processi biologici: si sa abbastanza della sua organizzazione fondamentale da poter disporre di un robusto trampolino di lancio per la ricerca futura, ma vi sono ancora abbastanza misteri da costituire una sfida per l'esploratore più intrepido.

BIBLIOGRAFIA

ROITT I. M., *Compendio di immunologia*, quinta edizione, Idelson, Napoli, 1986.

SILVERSTEIN ARTHUR M., *A History of Immunology*, Academic Press, 1989.

NOSSAL G. J. V., *Immunologic Tolerance: Collaboration between Antigen and Lymphokines* in «Science», 245, 14 luglio 1989.

ROSE NOEL R. e MACKAY IAN R., *The Autoimmune Diseases*, Academic Press, 1992.

Sopravviveremo?

L'uomo e gli agenti patogeni condividono una lunga storia evolutiva, ma vi è il rischio che il sistema immunitario perda le proprie capacità difensive nell'ambiente artificiale della società industriale avanzata

di Avrion Mitchison

Le caratteristiche biologiche della nostra specie sono rimaste grosso modo invariate negli ultimi 200 000 anni circa. Durante questo periodo di tempo il sistema immunitario ha presumibilmente svolto un ruolo cruciale nella nostra capacità di resistere a parassiti, batteri, virus, tossine e altri pericoli che si manifestano interagendo con i nostri processi biochimici. Si deve notare che il rapporto è stato continuo e reciproco: si è trattato cioè di un rapporto in cui tutte le parti si sono adattate le une alle altre in una grande varietà di modi, che vanno dalla guerra aperta al compromesso e persino alla simbiosi. Da un punto di vista evoluzionistico, via via che procedeva questo rapporto né noi né i nostri coinquilini siamo rimasti fermi. Di per sé questa lunga corsa ci dovrebbe dare fiducia nel fatto che la nostra specie continuerà a sopravvivere, almeno per quanto riguarda le minacce che possono venire dal mondo microbico. Tuttavia non è detto che questo ottimismo non venga prima o poi spazzato via dalla dura realtà.

La potenziale minaccia proviene dai recenti cambiamenti di alcuni aspetti fondamentali dell'esistenza umana, in conseguenza dei quali il nostro sistema immunitario si è trovato a far fronte a sfide di una difficoltà senza precedenti. Da circa un secolo - un lasso di tempo insignificante da un punto di vista evoluzionistico - più o meno il 20 per cento degli esseri umani vive in una moderna società industriale, vale a dire in un ambiente artificiale che abbiamo costruito noi stessi, in gran parte libero dai parassiti e da molti degli agenti patogeni ai quali il sistema immunitario regisce. Una buona notizia, forse, ma che fa sorgere dubbi legati agli effetti che questa sottoutilizzazione del sistema immunitario potrebbe avere sulle nostre capacità di difesa.

Il sistema immunitario potrebbe non godere di un periodo illimitato di tranquillità. I viaggi aerei intercontinentali, l'aumento della popolazione e la crescita delle megalopoli hanno notevolmente moltiplicato le occasioni in cui un individuo può trovarsi esposto ad agenti patogeni. Da parte loro, i microrganismi non hanno dormito sugli allori, e anzi continuano ad apparirne nuove varietà. Oggi esiste un virus che attacca proprio quelle difese a cui ci affidiamo per la nostra sopravvivenza: il virus dell'immunodeficienza umana o HIV. Il batterio *Legionella*, la spirocheta della malattia di Lyme e il virus della febbre della Rift Valley sono altri esempi della capacità della natura di porre sfide formidabili al sistema immunitario. Persino gli agenti patogeni più antichi riescono a inventare nuovi trucchi. Ceppi del bacillo della tubercolosi che hanno recentemente sviluppato una resistenza ai farmaci stanno infestando i centri urbani anche nei paesi industrializzati. È lecito chiedersi se questi sviluppi modificheranno il tranquillo equilibrio in cui ci siamo venuti a trovare, e se *Homo sapiens* e i microrganismi continueranno a coesistere, ovvero se una delle due parti otterrà una vittoria definitiva.

Un'indicazione importante per poter rispondere a questa domanda la si può trovare nella storia evolutiva del sistema immunitario. Dobbiamo guardare indietro di alcune centinaia di milioni di anni, quando i primi vertebrati cominciarono a evolvere dai loro antenati invertebrati: è in quel momento che fece la sua prima apparizione il sistema immunitario. Un attento esame pone in risalto un dato significativo: il sistema immunitario ha sempre avuto l'unico scopo di difendere l'organismo contro le infezioni. Non è stato plasmato da alcun altro fattore esterno. Questa osservazione è illustrata da quei rari «esperimenti naturali» riguardanti bambini che nascono con un sistema immunitario non funzionante a causa della mutazione di un gene di importanza fondamentale.

Se non vengono trattati, questi bambini sono destinati a morire precocemente per qualche infezione; essi possono sopravvivere solo in condizioni di isolamento, all'interno di una bolla sterile. Questi esempi dimostrano chiaramente che lo sviluppo del sistema immunitario non ha nulla a che vedere con il compito di proteggere l'ospite da una crescita cellulare anomala. I bambini colpiti da immunodeficienza, così come le loro controparti animali (per esempio i topi nati con un difetto congenito del timo), non presentano infatti un'elevata incidenza della maggior parte dei tumori.

Questi esperimenti naturali eliminano dal novero delle ipotesi altre due possibili funzioni del sistema immunitario. Alcuni ricercatori hanno proposto che esso serva a stimolare la crescita dei globuli rossi del sangue; tuttavia i tragici protagonisti di questi esperimenti producono un numero normale di eritrociti. Altri studiosi hanno ipotizzato che il sistema immunitario possa prevenire alcune forme di sterilità neutralizzando i leucociti paterni. I topi che hanno un difetto congenito del timo, se tenuti in vita in un ambiente semisterile, si riproducono senza difficoltà.

Queste osservazioni non significano necessariamente che il sistema immunitario non possa avere caratteristiche tali da consentirgli di aggredire le cellule cancerose o di facilitare la riproduzione. Ma bisogna essere realisti: non sarà facile convincerlo a svolgere funzioni per le quali non abbia sviluppato particolari competenze nel corso dell'evoluzione.

Oltre a testimoniare del fatto che esso ha uno scopo ben definito, l'esame della storia del sistema immunitario rivela una seconda importante caratteristica: la sua evoluzione sembra essere avvenuta attraverso un processo di elaborazione. Il sistema immunitario ha conseguito la

La rapida crescita della popolazione umana, l'affollarsi di molti individui nelle megalopoli e l'esistenza di mezzi di trasporto ad alta velocità, soprattutto l'aereo, rappresentano altrettante sfide al sistema immunitario. Tutti questi fattori stanno infatti progressivamente alterando il rapporto che intercorre fra la nostra specie e virus, batteri e parassiti.

propria ampia capacità di protezione incorporando meccanismi di difesa già presenti negli invertebrati, e non semplicemente sovrapponendosi a essi e rimpiazzandoli con qualcosa di meglio.

Tra i sistemi perfettamente funzionali che proteggono gli invertebrati vi sono fagociti e proteine che circolano liberamente nei fluidi organici e possono legarsi ai batteri invasori. Queste difese possono realizzare la maggior parte dei compiti di un sistema immunitario vero e proprio, ma non hanno la capacità di organizzare una risposta potenziata contro organismi già incontrati in precedenza. Le difese evolutivamente più antiche non possiedono una memoria specifica, che è invece una caratteristica del sistema immunitario vero e proprio.

Essendosi evoluto in presenza di queste difese più antiche, non adattative, il sistema immunitario ha incorporato alcuni dei loro elementi, utilizzandoli per i propri scopi. Non è fantasioso far risalire a queste forme ancestrali il sistema complemento o le cellule che presentano l'antigene degli organismi superiori. Sui linfociti sono presenti molecole antiche, come i recettori del complemento, e i macrofagi umani sfoggiano le molecole del maggior complesso di istocompatibilità (MHC), che sono strutture derivate dai fagociti degli invertebrati.

Il sistema immunitario sembra aver conseguito la propria capacità di riconoscere gli antigeni e di organizzare attacchi contro di essi evolvendosi da proteine difensive «stupide», come il complemento, e incorporandole al proprio interno. L'evoluzione del sistema nervoso è avvenuta in gran parte nello stesso modo; probabilmente la sua organizzazione si è fatta via via più intricata per realizzare funzioni di complessità crescente. Così la parte più antica, il tronco cerebrale, media le funzioni automatiche, come il battito cardiaco e la respirazione; il cervelletto regola i movimenti complessi, mentre la corteccia, in quanto sede della coscienza, media la percezione e coordina il tutto.

La somiglianza tra i due sistemi riguarda tanto la struttura quanto la funzione. Un citoscheletro, con la sua caratteristica schiera di proteine specializzate, lo si può già riconoscere in organismi primitivi come i lieviti. Il citoscheletro fa ben più che sostenere passivamente la struttura della cellula. Nei neuroni umani, per esempio, ha la funzione di facilitare il trasferimento delle vescicole contenenti i neurotrasmettitori dall'interno della cellula alla sinapsi. Nel sistema immunitario le cellule che presentano l'antigene sono in grado, con un meccanismo analogo, di ingerire materiale estraneo, frammentarlo e presentarne le componenti essenziali al mondo esterno.

Sfortunatamente non siamo in grado di ricostruire la maggior parte delle tappe evolutive del sistema immunitario; infatti tutti gli sviluppi cruciali sembrano essersi verificati in uno stadio iniziale dell'evoluzione dei vertebrati, stadio che è scarsamente rappresentato nei fossili e al quale afferiscono ben poche specie attuali. Persino i vertebrati più primitivi oggi esistenti sembrano possedere il meccanismo di riarrangiamento dei geni per i recettori dell'antigene e sono dotati di linfociti *T* e *B* separati e di molecole MHC. Dunque il sistema immunitario sembra comparire già «armato» di tutto punto. È davvero increscioso che sia sopravvissuto un numero così ridotto di «esperimenti evolutivi» riguardanti la transizione ai vertebrati.

La rapida diffusione delle malattie, favorita dalla possibilità di spostamenti aerei e dai facili contatti fra diversi continenti, è un aspetto della vita contemporanea di fronte al quale il sistema immunitario si trova sovente senza difese. Malattie infettive gravi e spesso mortali, come l'AIDS, diversi ceppi di influenza e nuovi ceppi di tubercolosi resistenti ai farmaci, si stanno diffondendo con grande rapidità in tutto il mondo, generalmente dai paesi in via di sviluppo verso quelli industrializzati.

Solo per le immunoglobuline siamo in grado di discernere buona parte della storia evolutiva. Presumibilmente il sistema più antico comprendeva non più di un singolo gene per la produzione di immunoglobulina. Esso si replicò rapidamente dando origine a una serie di duplicati, ognuno dei quali in grado di sintetizzare una molecola differente di immunoglobulina. Quindi emerse un meccanismo di controllo capace di dirigere la produzione di segmenti genici separati, che a loro volta potevano ricombinarsi. Tuttavia anche nell'uomo si conserva qualcosa dell'organizzazione primitiva del sistema immunitario: i geni che controllano la produzione dell'immunoglobulina della catena leggera lambda, una forma dei quali è costituita da due soli elementi.

Le molecole di immunoglobulina, le proteine più caratteristiche del sistema immunitario, si combinano con l'antigene per segnalarne la presenza ai leucociti o per avviare le reazioni a catena distruttive del sistema complemento. Queste proteine possono essere raggruppate in superfamiglie. Si è scoperto che nel moscerino della frutta, *Drosophila*, esistono molecole che assomigliano a quelle delle superfamiglie delle immunoglobuline. Il loro ruolo, tuttavia, non è immunologico: in quanto molecole di adesione cellulare, esse guidano la crescita dei neuroni nelle larve.

Alcune molecole significative da un punto di vista immunologico sono ancora più antiche. I batteri, per esempio, posseggono proteine di trasporto omologhe a quelle che le cellule umane usano per trasportare i peptidi alle molecole MHC; in quest'ultimo caso le proteine inseriscono i peptidi nell'incavo di presentazione dell'antigene. La caratteristica straordinaria del sistema immunitario è che le sue proteine si sono diversificate e specializzate in una maniera che non ha precedenti, tranne che nel sistema nervoso. Soltanto pochissime molecole del sistema immunitario sono davvero nuove. Quel «grande *bricoleur*» che è la selezione naturale ha bisogno soltanto di un numero limitato di parti nella sua scatola di montaggio.

Recenti ricerche sui sistemi immunitari dei pesci e degli anfibi hanno consentito l'identificazione di un altro interessante «relitto». Questi vertebrati a sangue freddo possiedono un sistema immunitario che reagisce in modo relativamente lento, equipaggiato com'è di recettori per l'antigene scarsamente diversificati. Il girino della rana comune, per esempio, sintetizza soltanto un centinaio di molecole differenti di anticorpi. D'altro canto, le rane possiedono potenti peptidi difensivi, chiamati magainine, che perforano le pareti cellulari dei batteri. Molecole che sul piano funzionale assomigliano alle magainine, come le cecropine degli insetti e le squalamine degli squali, sono state ritrovate in tutto il regno animale, perfino negli organismi a sangue caldo.

Il sistema immunitario, quindi, ha trascorso probabilmente la maggior parte della sua esistenza primitiva in una condizione di indolenza e di relativa inefficienza, svolgendo un ruolo abbastanza secondario per quanto riguarda le funzioni di difesa. Il sistema è entrato nel pieno della sua funzione solo molto più tardi, dopo che la «rivoluzione» dovuta alla comparsa del sangue caldo ha consentito alle cellule di moltiplicarsi con grande rapidità.

A mano a mano che cresceva di importanza e di complessità, il sistema immunitario andò incontro a una serie di riorganizzazioni che comportarono compromessi di vario tipo. Il fatto che le risorse metaboliche di un organismo non siano illimitate rende necessarie queste scelte economiche. Un investimento in sistemi effettori, la cui punta estrema è rappresentata dalle cellule *killer* e dagli anticorpi che attaccano batteri e virus, deve essere bilanciato da un investimento in sistemi di regolazione, indispensabili per tenerne sotto controllo l'attività. Così, nel sistema immunitario dell'uomo, le cellule *T* regolatrici, conosciute anche come cellule CD4, sono presenti in quantità maggiore rispetto a qualsiasi altro tipo di cellula.

A questo punto può essere utile ricorrere al linguaggio economico, così come si fa quando si discute di etologia. Gli immunologi seguiranno allora le orme di quei biologi che sono soliti considerare l'investimento del cervo nelle corna ramificate o il bilancio profitti-perdite della ricerca di fiori appena sbocciati per il colibrì. I linfonodi e la milza costituiscono un perfetto analogo del mercato. Nei centri germinativi di questi organi, i linfociti *B* mutano e competono duramente per la piccolissima quantità di antigene necessaria a sopravvivere. I vincitori si assicurano una proliferazione massiccia, mentre le cellule che non trovano l'antigene muoiono.

Nei casi in cui la natura non fornisce dati in grado di sostenere l'indagine sull'evoluzione del sistema immunitario, gli immunologi hanno fatto ricorso a uno strumento spesso impiegato dagli economisti: la simulazione al calcolatore. Franco Celada dell'Hospital for Joint Diseases di New York e Philip E. Seiden del Thomas J. Watson Research Center dell'IBM hanno messo a punto un automa cellulare in grado di simulare in modo raffinato gli eventi cellulari che hanno luogo all'interno del sistema immunitario. Insiemi di linfociti *T* e *B* e di cellule che presentano l'antigene, opportunamente provvisti di recettori e mo-

lecole MHC, vengono (metaforicamente) mescolati con l'antigene, lasciando quindi che vadano incontro a una serie di interazioni. L'automa risponde molto bene alla stimolazione antigenica, organizzando risposte primarie e secondarie riconoscibili.

I risultati più interessanti emergono quando si affrontano questioni più profonde, per esempio quale sia il numero ottimale di tipi MHC per individuo. Il programma risponde valutando il vantaggio che deriva dall'essere in grado di presentare un numero sempre maggiore di peptidi rispetto allo svantaggio di eliminare sempre più cellule *T* dal repertorio disponibile. Ricordiamo che oltre a presentare l'antigene, la molecola MHC identifica un tessuto come «sé». Un incremento del numero di molecole MHC comporta un aumento del numero di autoantigeni; pertanto, se si vuole evitare l'autoimmunità, deve essere eliminato un numero corrispondente di linfociti *T*. Inoltre la perdita di tipi MHC riduce alla lunga la flessibilità della risposta agli organismi invasori.

Secondo il modello al calcolatore, risulta ottimale un numero compreso tra quattro e otto, il che corrisponde con buona approssimazione a quanto si osserva. Sebbene non si tratti del primo modello matematico del sistema immunitario, questo automa cellulare rappresenta oggi lo strumento nel contempo più semplice e più efficace per lo studio di questi problemi evolutivi. La prova del fuoco per questo modello la si avrà quando si tenterà di rispondere a domande le cui soluzioni non sono note.

Un problema che si ricollega a quello appena discusso è per quale motivo l'incavo di presentazione dell'antigene delle molecole MHC possa alloggiare una sequenza di appena nove amminoacidi (si veda l'articolo *Come il sistema immunitario riconosce gli invasori* di Charles A. Janeway, Jr., a pagina 40). Un biochimico potrebbe pragmaticamente sostenere che si tratti di un accidente dovuto alla particolare geometria della molecola MHC, ma un più cauto evoluzionista nutrirebbe perplessità sul fatto che questa spiegazione sia sufficiente. Potrebbe sostenere invece che la lunghezza dell'incavo rappresenti il risultato della pressione selettiva di due esigenze opposte: da un lato quella di conservare quanto più possibile il repertorio di cellule *T* e dall'altro quella di impedire ai parassiti la produzione di proteine invisibili al sistema dei linfociti *T*. Per esempio, se un incavo potesse contenere solo sei amminoacidi, quasi tutti gli esapeptidi verrebbero a far parte del repertorio di proteine del sé, con il risultato che quasi tutte le cellule *T* sarebbero eliminate. Per contro, se l'incavo potesse ospitare 14 amminoacidi, i parassiti avrebbero la possibilità di evolvere in modo da evitare di incorporare nelle loro proteine peptidi riconoscibili.

Si può immaginare che i vertebrati primitivi abbiano «sperimentato» diverse lunghezze dell'incavo per trovare quella più adatta. La verifica di questa possibilità si colloca al di là della portata degli attuali modelli al calcolatore, ma in futuro la cosa diventerà certamente fattibile.

Come si concilia questa ricerca così evidente di economia con quelle caratteristiche che fanno invece apparire il sistema immunitario come uno scialacquatore? Per esempio esistono diversi «doppioni» di insiemi di leucociti, ognuno equipaggiato con una serie più o meno completa di recettori per l'antigene. Possiamo avanzare la ragionevole congettura che il vantaggio di questa ripetizione sia quello di consentire la specializzazione. Sono necessarie immunoglobuline diverse per affrontare in modo adeguato parassiti differenti (la IgA, per esempio, è quella più efficace contro i parassiti intestinali), e ogni immunoglobulina richiede un suo clone di linfociti *B*. Analogamente, le cellule *T* citotossiche garantiscono una difesa appropriata contro virus come quelli dell'influenza e contro batteri intracellulari come *Listeria*. La più ampia divisione in linfociti *T* e *B* riflette, almeno in parte, il vantaggio di attribuire ai primi la responsabilità dell'autotolleranza e di consentire quindi ai secondi di permettersi il lusso dell'ipermutazione. Una combinazione dei due processi non potrebbe funzionare. Immaginiamo che le popolazioni di linfociti *T* si liberino delle cellule che reagiscono con il sé all'interno del timo (come infatti accade) e poi generino nuovi recettori con un processo di ipermutazione (cosa che accade solo nelle cellule *B*): sarebbe garantita un'autoimmunità disastrosa!

Il numero ottimale di tipi di molecole MHC (maggior complesso di istocompatibilità) deriva da un compromesso tra il bisogno di riconoscere una gran quantità, forse molti milioni, di organismi invasori, e quello di evitare le reazioni autoimmunitarie. Sia l'osservazione sia le simulazioni al calcolatore (in alto sono riportati i dati ricavati da quelle elaborate da Philip E. Seiden dell'IBM) indicano che il numero ottimale di tipi MHC varia tra quattro e otto. In basso è indicato come una molecola MHC presenta l'antigene ai linfociti *T helper*. Il processo comincia quando un macrofago incontra un antigene (*1*). Il macrofago attacca l'antigene (*2*) e lo ingerisce per poi frammentarlo (*3*) e combinarlo con una molecola MHC. Il macrofago esprime la combinazione antigene-MHC sulla propria membrana esterna (*4*), dove può essere vista da un linfocita *T*, il quale induce a sua volta i linfociti *B* a produrre anticorpi in grado di mobilitare le opportune componenti del sistema immunitario.

Si può ora cominciare a ricavare alcune risposte alle nostre domande, e vorrei per prima cosa dissipare un possibile fraintendimento. Il resoconto fatto fin qui dell'evoluzione del sistema immunitario potrebbe indurre a pensare che questo processo si sia svolto essenzialmente nel lontano passato; di fatto, è vero il contrario. Quasi certamente il sistema immunitario dell'uomo sta oggi evolvendo in modo più rapido, di generazione in generazione, di quanto abbia mai fatto prima. Buona parte di questo cambiamento interessa i geni polimorfici, vale a dire geni che esprimono molte forme diverse di una stessa molecola MHC o anticorpo. Il sistema immunitario umano è fortemente polimorfico, molto più di qualsiasi altra parte dell'organismo. Le singole molecole variano da un individuo all'altro in misura tale che una particolare combinazione difficilmente si presenta una seconda volta. Questo stato di cose riflette il fatto che i nostri parassiti si riproducono molto più rapidamente di noi e possono quindi evolvere più velocemente.

Al pari di quanto avviene per altre forme di polimorfismo, come quella che determina il colore delle ali delle farfalle, la diversità è presumibilmente conservata da una selezione in favore degli eterozigoti. Questi ultimi sono individui portatori di copie differenti di ogni gene, in questo caso dei geni che contribuiscono alla variabilità delle molecole che si legano all'antigene. Un individuo eterozigote trae evidentemente vantaggio dall'avere, in aggiunta ai quattro-otto loci genici già menzionati, due geni diversi in ogni locus: una siffatta organizzazione massimizza la probabilità di riuscire a legarsi almeno con un peptide contenuto in una qualsiasi proteina batterica o virale.

Il polimorfismo dell'MHC appare effettivamente più complesso e più interessante che non una semplice selezione in favore delle risposte immunitarie ai parassiti. È vero anche il contrario, nel senso che un processo vigoroso crea con tutta probabilità una ricca varietà di geni i cui prodotti sopprimono la risposta immunitaria. Questi geni hanno il compito di limitare una reazione immunitaria che danneggi direttamente l'organismo nel corso della risposta a un agente patogeno (si veda l'articolo *Le malattie autoimmuni* di Lawrence Steinman a pagina 78).

Il tipo di rapporto esistente fra queste due forme di controllo trova nella lebbra la sua migliore esemplificazione. Questa malattia colpisce oggi oltre un milione di persone nelle regioni tropicali del mondo. Essa è sparita dall'Europa solo negli ultimi secoli, per ragioni sconosciute; oggi ne resta il ricordo in alcuni toponimi.

Gli individui infettati dal batterio della lebbra reagiscono in diversi modi. Tore Godal dell'Organizzazione mondiale della sanità ha scoperto che la maggior parte dei pazienti debella l'infezione conservando nel sistema immunitario solo poche tracce di reattività. Altri malati presentano una forma «tubercoloide» in cui l'organismo sviluppa una risposta vigorosa, ma solo parzialmente efficace, dei linfociti *T*. Un terzo gruppo di pazienti presenta una condizione «lepromatosa» nella quale la risposta delle cellule *T* viene soppressa e il derma è invaso da batteri infettivi, ma l'esistenza del malato può continuare più o meno

Progetti di sopravvivenza condivisi e non condivisi

Richard Dawkins dell'Università di Oxford ha osservato che i rapporti tra un agente patogeno e il suo ospite possono andare da una compatibilità totale a un contrasto mortale, a seconda di quanto hanno in comune i rispettivi progetti di sopravvivenza. Quando il genoma di un agente patogeno si trasmette nei gameti dell'ospite, i due condividono un progetto di sopravvivenza e quindi «convergono» sul fatto che l'ospite debba rimanere sano e in grado di riprodursi. I gameti di molte specie di mammiferi, per esempio il procione, trasportano un corredo significativo di questi geni virali benigni e talvolta persino utili. Il rapporto tra il virus della rabbia e il suo ospite illustra la situazione opposta. Il virus, che si diffonde tramite contatto con la saliva, ha scarso interesse per la sopravvivenza del suo ospite. Secondo l'autore, nel rapporto fra l'uomo e i suoi patogeni la tendenza evolutiva è andata in direzione di un progetto comune.

normalmente. È nei casi in cui la reazione non è stata completamente soppressa che tende a manifestarsi la patologia immunitaria. René de Vries e collaboratori dell'Ospedale universitario di Leida hanno ampiamente dimostrato che i geni MHC controllano questa varietà di risposte.

Senza alcun dubbio ai nostri giorni questi geni immunosoppressori sopravvivono per lo più come vestigia di infezioni croniche quali la lebbra, garantendoci (sia pure come effetto collaterale) una protezione contro le malattie autoimmuni e allergiche. Donald J. Capra e colleghi del Southwestern Medical Center dell'Università del Texas a Dallas hanno condotto un ampio studio su persone affette da diabete insulinodipendente che avevano risposto a un appello lanciato attraverso una radio locale, e hanno trovato all'interno del campione un numero di geni MHC di un tipo specifico (HLA-DQw1.2) notevolmente inferiore a quanto si sarebbero aspettati sulla base della frequenza negli individui sani di controllo. Presumibilmente quei geni sopprimono la risposta immunitaria che distrugge le cellule beta del pancreas. Osservazioni simili sono state compiute su geni HLA coinvolti in altre malattie immunologiche, come l'artrite reumatoide e la vasculite.

L'effetto protettivo non sembra sufficientemente cospicuo da spiegare la sopravvivenza di questi geni: le malattie in questione sono rare e colpiscono principalmente la popolazione anziana. Nondimeno, essi suscitano un notevole interesse di ricerca. Presso il Deutsches Rheuma Forschungszentrum di Berlino riteniamo che l'effetto protettivo sia mediato da citochine inibitrici, come il fattore di crescita trasformante β, e stiamo cercando di mettere a punto trattamenti in grado di imitare questi meccanismi genetici. Nell'intraprendere questa strada siamo stati notevolmente influenzati dal lavoro pionieristico di Howard L. Weiner della Harvard University sulla sclerosi multipla, pubblicato agli inizi del 1993.

L'evoluzione dei meccanismi immunosoppressori non è che un esempio di come ospiti e parassiti influenzino reciprocamente il proprio sviluppo nel tempo. Ce ne sono molti altri: più cose impariamo sulle molecole del sistema immunitario, più straordinari appaiono questi adattamenti. Alcuni virus per esempio usano molecole del sistema immunitario per guadagnarsi l'accesso alle cellule dell'ospite.

Questa astuzia opportunistica, tipica degli agenti patogeni, può a volte essere sfruttata dall'uomo. John P. Tite e colleghi dei Wellcome Research Laboratories in Inghilterra hanno definito una sequenza all'interno di un'invasina batterica (una proteina che facilita l'invasione dei tessuti dell'ospite) che si lega a un'integrina (una proteina della superficie cellulare dell'ospite): essi sperano di poter utilizzare questa informazione per produrre molecole in grado di bloccare l'invasina.

Gli scienziati dell'Immunex Corporation di Seattle sono rimasti sorpresi dalla scoperta di certi virus che sintetizzano proteine capaci di legarsi alle citochine. Queste proteine aumentano la virulenza, presumibilmente inibendo la risposta immunitaria. I ricercatori dell'Immunex stanno costruendo proteine analoghe allo scopo di combattere malattie autoimmuni come l'artrite reumatoide.

All'altro estremo dello spettro, numerose sequenze di DNA virale si sono integrate nel genoma dell'uomo e di altri mammiferi e non vengono mai espresse. (La maggior parte delle varietà di colore del mantello apprezzate dagli appassionati di topi domestici deriva dal fatto che certi geni sono stati inibiti proprio da queste sequenze virali.) In altri casi le sequenze possono essere usate per scopi che nulla hanno a che fare con la replicazione virale. Per esempio, alcuni geni virali che codificano per superantigeni endogeni sono stati conservati nel genoma del topo e da quella posizione distruggono i prodotti dei cosiddetti geni V. Questi ultimi controllano la produzione di proteine che servono come siti di attacco per i superantigeni batterici (si veda l'articolo *Come il sistema immunitario riconosce il «sé»* di Philippa Marrack e John W. Kappler a pagina 52).

Si può iniziare a dare un senso a questa coevoluzione considerando il principio del «progetto in comune», introdotto da Richard Dawkins dell'Università di Oxford. Il DNA di un virus endogeno silente ha gli stessi bisogni del DNA dell'ospite: essi condividono lo stesso progetto in modo quasi completo. Per contro, l'obiettivo di un virus che uccide il proprio ospite dopo un breve periodo di latenza ha poco in comune con quello dell'ospite. Si dovrebbe aggiungere che il silenzio completo (l'inserimento nel DNA dell'ospite) è piuttosto raro, in quanto la maggior parte dei virus non

La lebbra, una malattia che non è più endemica in Europa, mostra uno spettro patologico che è il risultato della capacità del sistema immunitario di restare silente quando la risposta rischia di danneggiare l'ospite. Nel paziente a sinistra vengono espressi geni che hanno portato a una assenza completa di risposta: il bacillo della lebbra si moltiplica e si raccoglie in vescicole cutanee piene di liquido. Nel paziente al centro una risposta lieve produce una lesione a livello dell'attaccatura dei capelli. La mano a destra appartiene a un paziente nel quale si è manifestata una vigorosa risposta immunitaria, che però non ha eliminato completamente i batteri. In questi casi la risposta immunitaria provoca un vistoso danno tissutale.

Una strategia terapeutica per l'artrite reumatoide è suggerita da una risposta difensiva che il virus del vaiolo utilizza contro l'infiammazione. La risposta infiammatoria inizia quando un messaggero molecolare scambiato tra cellule del sistema immunitario, il fattore di necrosi tumorale (TNF), si lega al suo recettore (*a*). Per bloccare la risposta infiammatoria che distruggerebbe le cellule che lo ospitano, il virus induce la produzione di recettori esca (*b*) che intercettano il TNF prima che questo raggiunga una cellula del sistema immunitario. Questa risposta ha suggerito ai ricercatori dell'Immunex Corporation di Seattle una terapia per l'artrite reumatoide, una patologia caratterizzata da uno stato infiammatorio. Essi stanno preparando un'esca per il TNF formata da due recettori artificiali accoppiati a un frammento anticorpale, e ritengono che questa struttura a forma di Y possa competere in modo efficace per le molecole di TNF, bloccando la risposta autoimmune (*c*). I risultati iniziali appaiono incoraggianti (*curve a destra*). Il recettore artificiale sTNFR:Fc è in grado di inibire la risposta in vitro a concentrazioni più basse rispetto ad altri recettori per il TNF con i quali è stato confrontato; può darsi che ciò sia dovuto alla formazione di legami crociati.

sintetizza la trascrittasi inversa, l'enzima necessario per questo processo.

L'esigenza di trasmissione del parassita tende a imporre un progetto in comune, e quasi senza eccezione questa è la direzione in cui l'evoluzione si è mossa. Solo nuovi tipi di infezione, come quei virus che sono stati recentemente trasmessi a un'altra specie ospite, si portano appresso le proprie strategie di sopravvivenza distinte. Al parassita conviene raramente o mai uccidere il proprio ospite, un fatto di cui dovremmo essere profondamente grati.

Possiamo confidare che questa tradizione del «vivi e lascia vivere» continui anche nel mondo moderno? Le opportunità di far incontrare ospiti e parassiti che non hanno avuto precedenti contatti sono oggi più grandi che mai. Ogni decennio circa un miliardo di esseri umani si aggiunge alla popolazione mondiale; molti di essi affollano le megalopoli dei paesi in via di sviluppo e il trasporto aereo ad alta velocità rende agevole lo spostamento di milioni di persone intorno al globo. Il recente passato offre numerosi esempi di ciò che può accadere quando l'uomo incontra qualche agente patogeno dal quale non lo proteggono né l'evoluzione né il sistema immunitario.

I contatti avvenuti durante i secoli dei grandi traffici marittimi sono una seconda ragione per ritenere che il sistema immunitario si stia modificando più velocemente che mai. Robert C. Gallo del National Cancer Institute ha sostenuto in modo convincente che l'HIV ha probabilmente avuto origine in un complesso passaggio di virus dalle scimmie all'uomo. Ci sono pochi dubbi sul fatto che le epidemie di influenza abbiano lo stesso tipo di origine, a partire forse dal momento in cui una nuova varietà di virus attraversa una barriera fra specie ed è poi prontamente diffusa in tutto il mondo dai viaggiatori.

Sebbene la nostra capacità di manipolare il sistema immunitario aumenti continuamente, la migliore difesa naturale contro la maggior parte degli agenti patogeni, vecchi e nuovi, consiste nel polimorfismo del sistema immunitario stesso. Esso ci mette in grado di contrastare il vantaggio di cui godono gli agenti patogeni in ragione della loro capacità di evolvere rapidamente. Finora la nostra riserva di variabilità ci ha consentito di sopravvivere.

Viene da chiedersi se in futuro potremo contare su difese più robuste, come per esempio un'ulteriore elaborazione della struttura immunitaria. Il sistema di controllo sarà in grado di raggiungere un livello di complessità qualitativamente diverso? In realtà, non possiamo certamente contare su un siffatto sviluppo; tutte le strutture esistenti sono anticipate nelle più primitive forme di vita e non vi sono indizi che ne possano emergere di nuove.

Gli stili di vita attuali, con la conseguente riduzione dell'impatto delle infezioni sulla selezione naturale, saranno le principali forze motrici di un rapido cambiamento. È facile prevedere che in risposta alla proteiforme sfida della variabilità dei microrganismi si avrà una variazione nella frequenza relativa di geni polimorfici, quali quelli per l'MHC, e quindi la sostituzione di geni a larga scala. Il nostro isolamento da uno spettro completo di agenti patogeni ci consente anche di conservare la riserva di variabilità genetica che rappresenta la nostra principale difesa. Per quanto a lungo un polimorfismo possa rimanere inutilizzato, esso resta a disposizione, come i missili balistici alloggiati nei silos in posizione di lancio.

Tutti questi sviluppi dovrebbero rendere il sistema immunitario più adatto ai suoi nuovi compiti nel mondo attuale. Benché non si possa prevedere nello specifico quali saranno questi adattamenti, possiamo confidare nel fatto che, nel complesso, si riveleranno benefici. Inoltre è plausibile che la perdita di geni in apparenza deleteri sia più consistente dell'acquisizione di geni vantaggiosi.

La microfotografia mostra un nuovo ceppo di bacillo della tubercolosi altamente virulento e resistente ai farmaci. Forme alterate di agenti patogeni tradizionali e nuovi agenti patogeni, quali il virus dell'immunodeficienza umana (HIV) e la *Legionella*, sono in grado di sfidare e addirittura di minare il sistema immunitario.

Esiste anche la possibilità che i geni per l'MHC che conferiscono una suscettibilità all'artrite reumatoide o alla sclerosi multipla possano gradualmente sparire. Questo sviluppo avrebbe poco a che fare con i potenziali effetti evolutivi di queste malattie; dopo tutto esse colpiscono in prevalenza soggetti anziani che hanno già avuto ampie opportunità di riprodursi. È più probabile che ciò accada a causa dell'eliminazione delle infezioni che selezionano il mantenimento di questi geni. Per quanto in una società industrializzata alcuni geni possano apparire solo dannosi, non vi è dubbio che essi siano stati utili ai nostri antenati bersagliati dalle infezioni.

Dato che sappiamo ben poco su quali siano i geni per l'MHC necessari per combattere certe infezioni, è difficile fare previsioni dettagliate in merito.

La tendenza generale verso una selezione meno favorevole ai geni che conferiscono resistenza alle infezioni presenta ovvi rischi. Mentre si abbassano le nostre difese genetiche contro le vecchie infezioni, quasi certamente aumenterà la nostra suscettibilità a quelle nuove. Possiamo consolarci ricordando come l'evoluzione si sia mossa lentamente, massimizzando il rapporto fra vantaggi e svantaggi nel corso di molte generazioni, anche se va ribadito che l'evoluzione umana sta avvenendo molto più velocemente che in ogni altra epoca.

In rapporto a questa tendenza dominante, le altre forze evolutive sembrano esercitare un effetto relativamente piccolo. La nostra crescente capacità di stanare i geni che provocano i danni più vistosi, ricordata all'inizio dell'articolo, e di eliminarli attraverso lo *screening* genetico avranno un effetto più significativo per le singole famiglie che non per la specie nel suo complesso. Sono alle porte vaccini contraccettivi, per esempio quelli basati sull'ormone della gravidanza, la gonadotropina corionica. G. Pran Talwar e colleghi del National Institute of Immunology di Delhi hanno dimostrato quanto efficace possa essere questa forma di contraccezione, ma solo nelle donne che sviluppano la giusta risposta immunitaria.

Utilizzata in modo appropriato, l'informazione genetica può rappresentare uno strumento anche più potente. Quanto più affiniamo la capacità di identificare l'influenza dei geni dannosi, tanto più saremo in grado di vanificarne l'azione. Prendiamo, per esempio, l'artrite reumatoide. Gli studi condotti su gemelli indicano che i fattori genetici contribuiscono per almeno un terzo alla suscettibilità verso questa malattia e che l'MHC è il singolo fattore genetico più importante. Per quanto riguarda il diabete, la situazione è simile. Possiamo dunque cominciare a discernere un «tipo» suscettibile. In futuro saremo in grado di ricavare un profilo molto più completo della suscettibilità, che tenga conto dell'MHC e di altri fattori genetici, oltre che di parametri immunologici come la produzione delle citochine. Queste indagini potrebbero interessare i soggetti sani, in modo che essi sappiano in quali circostanze attendersi una risposta insufficiente o eccessiva, così da prendere precauzioni per ridurre i rischi.

Il sistema immunitario ha quindi raggiunto l'apogeo, dopo poche centinaia di milioni di anni dall'inizio del suo sviluppo? Sarà in grado di rispondere in tempo alle nuove sfide evolutive? A queste domande mancano risposte sicure, in quanto ci troviamo in una situazione del tutto senza precedenti. Anche se sapessimo quante volte nel passato una specie è stata annientata dai suoi parassiti, questa conoscenza ci direbbe poco riguardo alla nostra situazione attuale. Tuttavia vi sono fondati motivi di ottimismo. Fino a poco tempo addietro non eravamo mai riusciti a eliminare una malattia semplicemente aumentando l'attività del sistema immunitario, come è avvenuto con il vaiolo meno di 20 anni fa. Mai la scienza si era schierata in modo così raffinato e saldo contro le infezioni, grazie all'Organizzazione mondiale della sanità (e in particolare grazie ai suoi programmi di ricerca speciali) e a organizzazioni nazionali come i Centers for Disease Control di Atlanta.

Ma, soprattutto, io ripongo la mia fiducia nei poteri della microevoluzione, nella capacità del polimorfismo di trarre nuove difese dalla sua riserva, e nell'abilità di ospiti e parassiti di adottare in ultima istanza un piano di sopravvivenza comune.

BIBLIOGRAFIA

MITCHISON N. A., *The Evolution of Acquired Immunity to Parasites* in «Parasitology», 100, supplemento, pp. S27-S34, 1990.

MITCHISON N. A., *Specialization, Tolerance, Memory, Competition, Latency, and Strife among T Cells* in «Annual Review of Immunology», 10, pp. 1-12, 1992.

MITCHISON N. A., *A Walk round the Edges of Self Tolerance* in «Annals of Rheumatic Diseases», 52, supplemento 1, pp. S3-S5, marzo 1993.

MITCHISON N. A., *T-Cell Activation States: The Next Breakthrough in Signaling?* in «Immunologist», 1, n. 3, maggio/giugno 1993.

Un linfocita *B* si prepara ad abbandonare il midollo osseo dove è stato prodotto e a entrare in un vaso sanguigno. Le cellule immunitarie maturano sia nel midollo osseo sia nel timo e poi si propagano in tutto l'organismo e negli organi linfatici come la milza e i linfonodi.

Come si sviluppa il sistema immunitario

Sono segnali di origine ambientale e genetica a incanalare le cellule staminali, via via che si differenziano, in una delle numerose linee di discendenza in grado di riconoscere e combattere gli antigeni estranei

di Irving L. Weissman e Max D. Cooper

La straordinaria schiera di cellule che interagiscono tra loro per difendere l'organismo dalle invasioni microbiche e virali trae origine da un piccolo numero di precursori che cominciano ad apparire a circa nove settimane dal concepimento. Da questo momento in poi, le cellule del sistema immunitario procedono lungo un ciclo di sviluppo che si ripete senza interruzione. Le cellule staminali da cui dipende il sistema immunitario continuano, da una parte, a riprodursi e dall'altra a dare origine a molte genealogie cellulari specializzate: linfociti *B*, macrofagi, linfociti *T killer* (o citotossici), linfociti *T helper* (o coadiuvanti), linfociti *T* infiammatori e via dicendo.

Le cellule del sistema immunitario non sono isolate in un unico spazio o disposte a formare un singolo organo; al contrario esse hanno la possibilità di muoversi, non essendo collegate ad altre cellule. Questa caratteristica è fondamentale non solo per l'espletamento della loro funzione, ma è anche una fortuna per i ricercatori che possono isolare le cellule immunitarie, a ogni stadio del differenziamento, in una forma relativamente pura. Vengono così determinate le proprietà delle cellule e se ne possono costruire gli «alberi genealogici».

L'informazione acquisita serve ai biologi per capire come, in generale, le cellule si sviluppino e si differenzino, in un processo che inizia con l'uovo fecondato e culmina nella estrema complessità dell'organismo adulto. Cosa ancora più importante nel breve termine, questa conoscenza potrebbe permettere di curare le numerose malattie che possono insorgere quando le cellule del sistema immunitario non riescono a svilupparsi normalmente nel feto o deviano dal loro normale schema di crescita in una fase più tardiva dell'esistenza.

Le attuali concezioni su come si sviluppino le varie componenti del sistema immunitario sono quasi all'opposto di quelle di tre decenni fa. Sappiamo oggi che il sistema immunitario di tutti gli organismi deriva da un numero relativamente piccolo di cellule progenitrici presenti nel midollo osseo e nel timo. Prima degli anni sessanta, si riteneva che tutti i differenti tipi di cellule necessari per la risposta immunitaria fossero prodotti localmente in organi linfatici, come la milza, l'appendice cecale e i linfonodi, questi ultimi distribuiti in tutto l'organismo. Questa concezione cominciò a modificarsi in seguito a esperimenti sugli animali e a osservazioni cliniche sulle disfunzioni del sistema immunitario.

Fra tutti gli eventi decisivi che hanno portato alle attuali teorie sull'origine delle cellule immunitarie, forse i primi furono i bombardamenti atomici su Hiroshima e Nagasaki. Molte persone esposte alle radiazioni prodotte dalle esplosioni morirono a 10-15 giorni di distanza per emorragie interne o infezioni. Esperimenti su animali, effettuati per stabilire che cosa fosse accaduto a queste vittime, hanno rivelato che l'esposizione dell'intero organismo alle radiazioni uccide le cellule degli organi emopoietici e linfatici. Privato delle cellule responsabili della coagulazione del sangue e della lotta contro i microrganismi invasori, l'organismo muore.

È stato scoperto che la sindrome da irradiazione poteva essere curata con l'inoculazione di un piccolo campione di cellule del midollo osseo proveniente da un donatore geneticamente identico. Ulteriori ricerche sui topi hanno dimostrato che i sistemi ematico e immunitario dei topi guariti dagli effetti dell'irradiazione provenivano interamente dalle cellule del donatore. Una frazione del midollo osseo ricostituito di questi animali poteva a sua volta salvare altri topi esposti a radiazioni. Era chiaro che il midollo osseo conteneva cellule capaci sia di differenziarsi in tutte le linee cellulari ematiche sia di riprodurre se stesse.

Ben presto si scoprì che alcune cellule del midollo osseo, ma non necessariamente tutte, possono dare origine a discendenti di parecchi tipi. Queste cellule genitrici possono essere definite in base alle loro caratteristiche individuali e in base alle caratteristiche delle loro linee di discendenza (si dice che tutte le cellule che derivano da un precursore appartengono a un unico clone). È possibile coltivare *in vitro* molti cloni differenti, in modo da fornire per le analisi un quantitativo sufficiente di cellule a ogni stadio del differenziamento.

Nel 1961 Ernest A. McCulloch e James E. Till dell'Ontario Cancer Institute di Toronto trovarono che un'unica cellula del tipo appropriato potrebbe ricostituire, in teoria, un intero sistema ematico. Essi iniettarono cellule di midollo osseo in topi irradiati e notarono che in molti di essi si formavano protuberanze sulla milza. Ogni protuberanza conteneva parecchi tipi distinti di cellule. Assieme ai loro collaboratori, McCulloch e Till dimostrarono poi che tutte le cellule di una protuberanza derivavano da un'unica cellula progenitrice. Essi avanzarono l'ipotesi che esistesse una popolazione di cellule relativamente rare - le cellule staminali emopoietiche - in grado sia di riprodursi sia di generare tutti i tipi cellulari ematici.

Dopo aver stabilito la funzione fonda-

mentale delle cellule del midollo osseo, è stata fatta una scoperta analoga a proposito del ruolo essenziale del timo. La rimozione di quest'ultimo in topi neonati ha compromesso lo sviluppo dei linfociti nel resto dell'organismo. I topi in questione sono stati soggetti a una immunodeficienza grave per tutto il resto della loro esistenza.

In un altro importante gruppo di esperimenti, ad alcuni pulcini è stato asportato un organo linfatico, la borsa di Fabrizio (quest'organo svolge nel pollo la stessa funzione del midollo osseo nell'organismo umano). L'intervento non ha influito sulle stesse linee di discendenza dei linfociti che vengono alterate dalla rimozione del timo; al contrario, ha bloccato la produzione di cellule che, raggiunta la maturità, sarebbero diventate plasmacellule in grado di secernere anticorpi. Pertanto i pulcini sottoposti all'asportazione della borsa di Fabrizio hanno presentato un'immunodeficienza di tipo diverso.

Le osservazioni cliniche hanno fornito prove complementari dell'esistenza di due genealogie linfatiche. In alcuni bambini, nei quali il timo si era sviluppato normalmente, al contrario del midollo osseo, i linfociti erano presenti nei tessuti periferici, ma si manifestava una carenza congenita di plasmacellule. Per contro, bambini nati senza timo, ma con midollo osseo normale, producevano plasmacellule, ma solo pochi linfociti.

Studi su neoplasie a carico di organi linfatici hanno rivelato lo stesso schema di sviluppo. Si è visto che nei topi molti tumori linfatici hanno origine nel timo; una precoce rimozione di quest'organo impedisce lo sviluppo di linfomi in altre sedi. Nei polli, d'altro canto, un linfoma di diversa natura è stato curato con l'asportazione della borsa di Fabrizio. È chiaro che i due organi linfatici hanno funzioni essenziali e distinte, e ciascuno sembra essere responsabile di una diversa classe di cellule immunitarie.

Alla fine degli anni sessanta era ormai chiaro che le cellule staminali danno origine a due grandi genealogie di linfociti (oltre che alle altre cellule ematiche). Una delle due linee di discendenza consiste nei linfociti *B*, che hanno origine nel midollo osseo e producono anticorpi che si legano alle proteine estranee, marcandole affinché possano essere attaccate da altri linfociti. Bersaglio dei linfociti *B* sono gli agenti patogeni extracellulari, come i batteri. L'altra linea di discendenza consiste nei linfociti *T*, che hanno origine nel timo. I linfociti *T* combattono agenti patogeni intracellulari come i virus, oltre ad altri parassiti intracellulari come l'agente della tubercolosi. Secernono anche molecole chiamate linfochine, che dirigono l'attività dei linfociti *B*, di altri linfociti *T* e di altre componenti del sistema immunitario.

Una volta formate, le cellule di entrambi i tipi migrano nella milza, nei linfonodi e nei tessuti linfoidi intestinali, dove possono incontrare l'antigene, cioè la molecola contrassegno degli invasori microbici o virali, ed essere così chiamati a intervenire. I linfociti, alla ricerca di antigeni estranei, continuano a circolare in tutto l'organismo, nei sistemi ematico e linfatico, e si fermano periodicamente negli organi linfatici.

Benché l'esistenza delle cellule staminali sia stata ipotizzata per la prima volta nel 1961, fino agli inizi degli anni ottanta si sono compiuti solo scarsi progressi nella loro identificazione. È stato a quell'epoca che si sono messi a punto saggi specifici per i precursori dei linfociti *B* e *T* e delle cellule mieloidi. Si sono potute così isolare cellule del midollo osseo, il che ha permesso di determinare quali proteine di superficie fossero presenti o assenti su particolari cellule in grado di formare cloni. Nei topi, ricercatori di uno dei nostri gruppi (quello di Weissman) hanno trovato progenitori dei linfociti *T* e *B* e di altre cellule ematiche solo in una piccola frazione della popolazione totale di cellule del midollo osseo, circa una cellula su 2000. Questi progenitori erano cellule staminali. La ricerca di cellule staminali nell'organismo umano richiedeva lo stesso genere di tecniche che erano risultate così utili nel topo. Nel corso dell'indagine, Joseph M. McCune e collaboratori della Stanford University hanno elaborato una tecnica che ha permesso loro di analizzare questa frazione di cellule del midollo osseo per determinare se contenesse davvero cellule staminali in grado di riprodursi. Essi hanno trapiantato timo, fegato, midollo osseo e linfonodi di feto umano in un ceppo di topi che non possedevano un sistema immunitario proprio, riuscendo a far radicare un sistema funzionante in grado di produrre cellule ematiche e linfociti *T* umani. In seguito a questi esperimenti, McCune fondò la SyStemix, una società di biotecnologia (con cui Weissman collabora).

Ricercatori della SyStemix hanno iniettato possibili cellule staminali umane in questi topi e hanno dimostrato che esse potevano realmente ricostituire i sistemi ematico e immunitario. Fatto interessante, le cellule del timo di derivazione umana sono anche risultate vulnerabili all'infezione da parte dell'HIV; questo distruggeva lo stesso tipo di cellule immunitarie umane circolanti che vengono distrutte nei malati di AIDS.

Le linee di discendenza delle cellule immunitarie e di altre cellule ematiche partono tutte dalla cellula staminale. Le cellule staminali che si differenziano generando linfociti *B* risiedono nel midollo osseo; quelle che producono linfociti *T* sono nel timo.

Le cellule staminali si differenziano nelle linee cellulari dei linfociti *B* e *T* in risposta a stimoli (molti dei quali ancora ignoti) provenienti dall'ambiente. Il fenomeno è osservabile nell'embrione, nel quale diventa chiara la distinzione tra linfociti *B* e *T*. In una fase precoce della vita fetale, le cellule staminali migrano in ondate separate dagli organi emopoietici al timo. Una volta nel timo, queste popolazioni di cellule staminali si dividono e si differenziano, dando origine a tipi successivi di linfociti *T* che popolano il rivestimento (epitelio) della cute, di vari orifizi (come la bocca e la vagina) e degli organi che si collegano a essi (l'apparato gastrointestinale, l'utero e così via), prima di produrre le generazioni più tarde di cellule che entrano in circolo per portarsi negli organi linfatici.

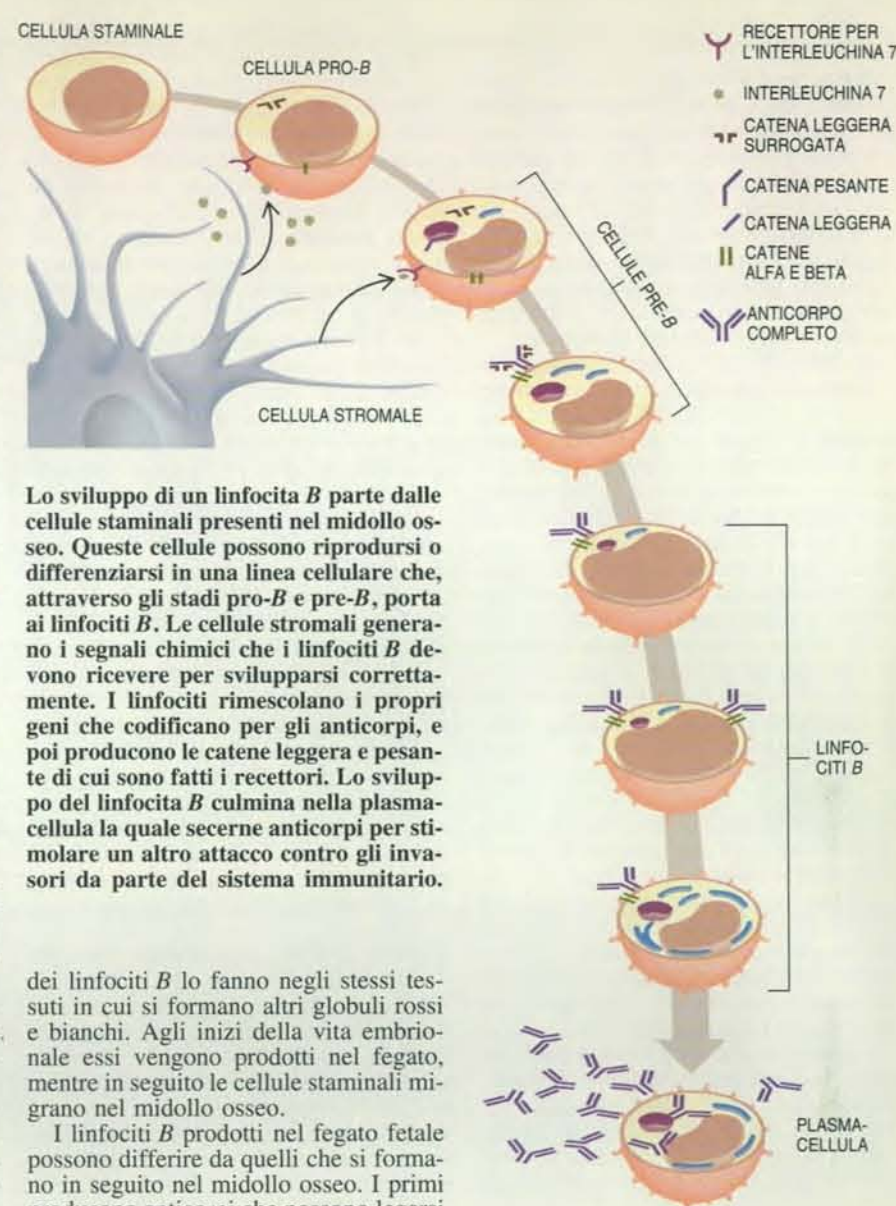
I linfociti *T* si possono distinguere in base alle molecole (chiamate TCR, dall'inglese *T cell receptor*) che portano in superficie. Inoltre, a quanto pare, sono prodotti in un ordine molto specifico: i primi hanno recettori le cui componenti consistono in catene dette gamma e delta, mentre i successivi portano recettori costituiti da catene alfa e beta.

Per esempio, nei topi, la prima ondata di linfociti compare tra il tredicesimo e il quindicesimo giorno di gestazione, e il tipo di TCR di queste cellule è detto gamma 3. L'ondata raggiunge la cute, dove i linfociti possono fungere da sentinelle che riconoscono e distruggono le cellule cutanee infettate, diventate neoplastiche o comunque lesionate.

La seconda ondata, che compare tra il quindicesimo e il ventesimo giorno di gestazione, raggiunge soprattutto il rivestimento degli organi riproduttivi femminili e l'epitelio della lingua di entrambi i sessi; i linfociti che ne fanno parte hanno un TCR gamma 4. I linfociti delle ondate successive migrano per lo più nella milza (gamma 2) e nell'epitelio di rivestimento dell'intestino (gamma 5).

La prima e la seconda ondata di linfociti vengono prodotte soltanto nel timo fetale. In una fase più avanzata dello sviluppo e poi nel corso di tutta l'esistenza, le cellule staminali che si insediano nel timo si differenziano prevalentemente in linfociti *T* con recettori alfa-beta: si tratta dei linfociti *T* helper e killer.

L'ordine in cui le cellule staminali generano queste ondate di discendenti corrisponde all'ordine in cui il DNA che codifica per differenti tipi di catene gamma compare nel gene responsabile della sintesi del TCR. Le cellule staminali sarebbero in grado di «leggere» un programma di sviluppo che dipende dall'età dell'animale.

Lo sviluppo precoce del sistema di linfociti *B* procede lungo linee simili, ma meno complesse. I discendenti delle cellule staminali che imboccano la via dei linfociti *B* lo fanno negli stessi tessuti in cui si formano altri globuli rossi e bianchi. Agli inizi della vita embrionale essi vengono prodotti nel fegato, mentre in seguito le cellule staminali migrano nel midollo osseo.

Lo sviluppo di un linfocita *B* parte dalle cellule staminali presenti nel midollo osseo. Queste cellule possono riprodursi o differenziarsi in una linea cellulare che, attraverso gli stadi pro-*B* e pre-*B*, porta ai linfociti *B*. Le cellule stromali generano i segnali chimici che i linfociti *B* devono ricevere per svilupparsi correttamente. I linfociti rimescolano i propri geni che codificano per gli anticorpi, e poi producono le catene leggera e pesante di cui sono fatti i recettori. Lo sviluppo del linfocita *B* culmina nella plasmacellula la quale secerne anticorpi per stimolare un altro attacco contro gli invasori da parte del sistema immunitario.

I linfociti *B* prodotti nel fegato fetale possono differire da quelli che si formano in seguito nel midollo osseo. I primi producono anticorpi che possono legarsi a un'ampia varietà di antigeni, ma con affinità relativamente bassa. Per contro, i linfociti successivi portano anticorpi che reagiscono molto più energicamente, ma con uno o due antigeni solamente. Sembra che i meccanismi impiegati dai linfociti *B* per produrre una gamma completa di anticorpi entrino in azione soltanto quando si avvicina il momento della nascita. Nell'organismo maturo ogni linfocita *B* ha alla superficie un particolare complesso anticorpale, che utilizza come recettore per riconoscere un antigene specifico.

Oggi disponiamo di parecchie conoscenze sul modo in cui le poche cellule staminali riescono a produrre questa enorme diversità di linfociti *B*. Per ricostruire il processo, è stato necessario imparare a riconoscere le numerose proteine di superficie che le cellule staminali esprimono quando si dividono e progrediscono lungo la via che porta al differenziamento in linfociti *B*. Questi marcatori molecolari sono un mezzo di primaria importanza con cui le cellule interagiscono con le loro vicine; di conseguenza un linfocita *B*, a mano a mano che matura, esporrà differenti proteine.

A quanto pare, i segnali che inducono una discendente di una cellula staminale a imboccare la via dei linfociti *B* anziché diventare un globulo rosso del sangue o un altro tipo di globulo bianco, provengono in primo luogo da altre cellule che si trovano nell'ambiente immediatamente circostante. La compianta Cheryl Whitlock e Owen N. Witte dell'Università della California a Los Angeles, che hanno scoperto per primi come effettuare colture a lungo termine di linfociti *B*, hanno trovato che le cellule stromali (grosse cellule simili a veli presenti nel midollo osseo) sono essenziali per la loro coltivazione. Esse interagiscono con le cellule progenitrici dei linfociti *B* (pro-*B*) mediante molecole di superficie; inoltre producono fattori proteici solubili (come l'interleuchina 7) che si legano a recettori presenti sulle cellule pro-*B* e

pre-*B*, segnalando loro di dividersi e di differenziarsi.

Quando si dividono, le cellule pro-*B* avviano quel processo che culminerà nell'espressione di un particolare complesso anticorpale che funge da recettore. In primo luogo esse riarrangiano i segmenti genici che codificano per le catene leggere e pesanti delle immunoglobuline che formeranno le molecole di anticorpo. Questi geni verranno trascritti attivamente non appena il riarrangiamento dei segmenti sarà completo.

L'ordine in cui i segmenti genici cominciano a funzionare ha un'importanza decisiva per lo sviluppo successivo dei linfociti *B*. I geni che dirigono la sintesi delle catene pesanti sono tipicamente i primi a essere rimescolati e a funzionare. (Le cellule in questa fase vengono chiamate pre-*B*.) In seguito i geni che codificano per le catene leggere subiscono un riarrangiamento e cominciano anch'essi a funzionare.

Le cellule pre-*B* cominciano a produrre due ulteriori proteine, le immunoglobuline alfa e beta (Ig-alfa e Ig-beta), che si estendono nello spessore delle membrane cellulari. Le catene pesanti immunoglobuliniche e le loro partner leggere si uniscono all'immunoglobulina alfa e all'immunoglobulina beta per formare un recettore per l'antigene che migra alla superficie della cellula. Qui il recettore può interagire con l'antigene e inviare segnali appropriati al nucleo. Le cellule che raggiungono questo stadio di differenziamento sono definite linfociti *B* e si immettono nel circolo sanguigno per raggiungere i tessuti periferici.

La popolazione di linfociti *B* può reagire a una gamma estremamente diversificata di antigeni. Ogni linfocita, per dirigere la sintesi delle proprie catene pesanti e leggere, seleziona una combinazione di segmenti genici su più di un milione di possibilità. Inoltre ogni linfocita in via di sviluppo può modificare i siti in cui avviene l'escissione del gene e la successiva saldatura dei frammenti, così da accrescere ulteriormente la variabilità del DNA che codifica per il sito di legame con l'antigene. Se questa diversità fosse ancora insufficiente, il linfocita potrebbe anche inserire nuove sequenze nucleotidiche in corrispondenza della giunzione tra segmenti, nel momento in cui procede alla loro saldatura.

Il linfocita riscrive il proprio codice genetico grazie a un enzima, la desossinucleotidotrasferasi terminale, che si esprime soltanto nel nucleo delle cellule pro-*B* dove ha luogo di solito il riarrangiamento del gene per le catene pesanti. Tuttavia a volte sono i geni per le catene leggere a subire per primi il riarrangiamento. Hiromi Kubagawa dell'Università dell'Alabama a Birmingham se ne rese conto quando infettò con il virus di Epstein-Barr cellule precoci della linea di discendenza *B* creando una coltura di cellule capaci di autoriprodursi i cui geni per le immunoglobuline erano «congelati» in quello stadio precoce di sviluppo. Kubagawa trovò cellule pre-*B* in cui solo i geni per le catene leggere avevano subito un riarrangiamento; le loro giunzioni contenevano sequenze nuove, il che faceva pensare che il rimescolamento avesse avuto luogo prima che cessasse l'attività della trasferasi.

Finora abbiamo parlato dello sviluppo dei linfociti *B* come se si trattasse di una via che tutte queste cellule devono percorrere fino alla fine, una volta che l'hanno imboccata; tuttavia le cose non stanno così. Dennis G. Osmond, ora alla McGill University, contando il numero di cellule pro-*B*, di cellule pre-*B* e di linfociti *B* nel midollo osseo di topo, ha trovato che metà o più della popolazione cellulare moriva nello stadio pre-*B*.

Si ipotizza che le cellule pre-*B* muoiano se non ricevono un segnale di sopravvivenza, una sorta di messaggero molecolare proveniente da cellule vicine. Questo «bacio della vita» può essere captato da un recettore che compare in uno stadio tardivo alla superficie delle cellule pre-*B*. Il recettore si compone di catene pesanti appaiate a un complesso surrogato di catene leggere, il quale, diversamente dai recettori per l'antigene prodotti dai linfociti *B* maturi, viene codificato da geni che per esprimersi non devono subire alcun riarrangiamento.

Bloccando l'espressione di questi recettori Daisuke Kitamura e collaboratori dell'Università di Colonia hanno trovato che la produzione di linfociti *B* scendeva a meno di un decimo del livello normale. I linfociti *B* sopravvissuti appartenevano forse a quel gruppo in cui i geni per le catene leggere avevano subito un riarrangiamento precoce, producendo così catene leggere non surrogate in tempo per poter sostituire il recettore mancante.

Altri linfociti *B* muoiono non perché non ricevono il segnale di sopravvivenza, ma perché certi riarrangiamenti dei segmenti genici di un linfocita *B* portano alla produzione di anticorpi che reagiscono con le cellule stesse dell'organismo; le linee di discendenza che presentano questi anticorpi vanno eliminate.

Il processo di selezione negativa comincia quando i linfociti *B* appena formati iniziano a interagire con l'ambiente. I linfociti che reagiscono al «sé» si imbattono in breve tempo in grandi quantità di antigene a cui possono legarsi i loro anticorpi: si tratta di molecole presenti sulla superficie delle cellule vicine. Se il legame è sufficientemente forte, l'anticorpo che funge da recettore trasmetterà segnali all'interno della cellula, costringendola a «suicidarsi»: questo tipo di morte cellulare programmata è definita apoptosi. I linfociti *B* immaturi che non hanno una forte reazione nei riguardi degli autoantigeni sopravviveranno e matureranno e in seguito potranno reagire a uno stimolo antigenico proveniente da molecole non-sé. Questo principio generale è stato dimostrato per la prima volta in pulcini e topi trattati con anticorpi diretti contro i recettori immunoglobulinici situati sui linfociti *B* immaturi: la somministrazione precoce degli anticorpi faceva abortire lo sviluppo dei linfociti *B*, mentre una somministrazione più tardiva lo stimolava. In una fase precoce dello sviluppo il segnale trasmesso dai recettori induce apoptosi attivando enzimi che scindono il DNA nucleare. Quasi nessun linfocita *B* autoreattivo sopravvive fino alla maturità.

I cloni che sopravvivono alla selezione possono migrare nei tessuti linfatici periferici, dove danno inizio alla fase attiva del loro ciclo vitale. Alla fine, dopo essere stati stimolati sia dagli antigeni sia dai linfociti *T*, possono ritornare al midollo osseo per affrontare la maturazione definitiva in plasmacellule che secernono anticorpi.

MHC DI CLASSE II
SELEZIONE POSITIVA
LINFOCITA *T* HELPER
LINFOCITI *T* AUTOIMMUNI
CELLULA MORTA
MHC DI CLASSE I
SELEZIONE POSITIVA
LINFOCITA *T* KILLER
CELLULA STAMINALE
NESSUNA SELEZIONE POSITIVA
CD4
CD8
RECETTORE
CELLULA MORTA

I linfociti *T* sono prodotti nel timo a partire dalle cellule staminali. Durante la maturazione essi attraversano vari stadi che si possono distinguere in base alle proteine di superficie espresse. Quelli i cui recettori si legano a molecole MHC di classe I su cellule adiacenti diventeranno linfociti *T killer*, mentre quelli i cui recettori si legano a molecole MHC di classe II diverranno per la maggior parte linfociti *T helper*. (Le molecole MHC hanno la funzione di presentare gli antigeni ai linfociti *T*.) I linfociti che non si legano a molecole MHC o che interagiscono con antigeni del proprio organismo muoiono.

La via che porta ai linfociti *T* è un poco più complessa. Le cellule staminali del timo che si orientano verso questa linea di sviluppo potranno maturare alla fine in parecchi tipi di linfociti *T*, ivi compresi i linfociti *T* helper e killer.

I linfociti *T* in via di sviluppo attraversano numerosi punti in cui vengono selezionati. La prima sfida che devono affrontare è la verifica della loro capacità di riconoscere antigeni presentati da altre cellule: un attributo essenziale per una cellula immunitaria funzionante. Le molecole del maggior complesso di istocompatibilità (MHC), che si dividono in classe I e classe II, presentano frammenti di proteine antigeniche ai linfociti *T*. I linfociti in via di sviluppo nel timo esaminano il proprio ambiente per determinare se riconoscono o meno una molecola MHC del sé. In caso positivo, sopravvivono; in caso negativo, muoiono.

Una volta che i linfociti *T* in fase di maturazione sono riusciti a superare questa prova, devono affrontare il passo successivo, cioè la distruzione di quelli i cui recettori reagiscono troppo bene con i tessuti dell'organismo (proprio come avviene nel caso dei linfociti *B*). In ultima analisi, sopravvivono solo quei linfociti *T* i cui recettori possono riconoscere sia i peptidi estranei sia le proteine MHC del sé; essi lasciano il timo e si insediano in tutto l'organismo.

Nel tentativo di precisare tutti i particolari di questo quadro, gli immunologi hanno cominciato ricostruendo la linea di discendenza dalla cellula staminale al linfocita *T* che lascia il timo. Per verificare le relazioni all'interno della genealogia cellulare, essi hanno utilizzato cellule staminali e discendenti che avessero marcatori nettamente riconoscibili; hanno poi introdotto queste cellule, in differenti stadi di maturazione, nel timo di topi le cui cellule non avevano quei marcatori. Dopo ore o giorni di attesa hanno potuto determinare quali discendenti avessero prodotto i loro trapianti.

Le cellule di timo trapiantate nello stadio più precoce dello sviluppo non esprimono sulla loro superficie pressoché alcuno dei marcatori comuni dei linfociti *T*: il corecettore CD4 è scarso o assente, e non vi è traccia né delle strutture del recettore del linfocita *T* né del corecettore CD8. (La proteina CD8 si le-

La circolazione delle cellule del sistema immunitario ha inizio nel midollo osseo, dove maturano i linfociti *B* (*in alto*). Le cellule che lasciano il midollo osseo (*in basso*) vanno a insediarsi nella milza, nei linfonodi e nelle placche di Peyer che si trovano nell'intestino. I linfociti *B* e *T* circolano in continuazione in tutto l'organismo, alla caccia di antigeni che potrebbero segnalare la presenza di una infezione.

ga alle proteine MHC di classe I, mentre la CD4 si lega alle proteine MHC di classe II.) Tuttavia, un giorno dopo il trapianto, queste grosse cellule si riproducono e danno origine ad altre cellule di grandi dimensioni che contengono CD8, ma non CD4 o TCR. (A un analogo stadio di sviluppo le cellule del timo umano esprimono CD4, ma non CD8 o TCR.) Le nuove cellule, a loro volta, si dividono dando origine a discendenti che presentano CD4, CD8 e piccole quantità di TCR; questo stadio è il primo in cui un progenitore dei linfociti *T* esprime TCR alla propria superficie. L'espressione della proteina CD4 in questi stadi precoci di sviluppo può spiegare perché l'HIV aggredisca in modo così violento i linfociti *T*: si ritiene che il virus dell'immunodeficienza umana si leghi alle molecole CD4 e possa così attaccare le cellule progenitrici primitive del timo, eliminando in questo modo l'intera loro discendenza.

Mentre si dividono e cambiano le proprie proteine di superficie, le cellule effettuano anche un riarrangiamento genico per produrre i recettori dei linfociti *T*. Per esempio, nel topo, l'assemblaggio e l'espressione in superficie delle catene del TCR cominciano allo stadio in cui vengono espresse sia la CD4 sia la CD8, o prima. Queste cellule progenitrici sono tenute pronte per interagire con cellule del timo che espongono le proteine MHC. Quelle che si legano alle molecole MHC di classe I diventano per la maggior parte linfociti *T* killer, mentre quelle che si legano alle molecole MHC di classe II si sviluppano principalmente in linfociti *T* helper, anche se alcune diventano, come le prime, linfociti *T* killer. (I linfociti che non si legano ad alcuna molecola MHC si raggrinziscono e muoiono.)

Una volta imboccata una via, le cellule nello stadio intermedio cessano la produzione del recettore che non utilizzeranno più (la proteina CD8 o la CD4) ed esprimono invece altro TCR. Esse acquisiscono anche recettori «di orientamento» che permettono loro di abbandonare il circolo sanguigno e di raggiungere gli organi linfatici periferici; infine lasciano il timo.

Naturalmente non tutti i potenziali linfociti *T* completano questa linea di sviluppo. Alcuni subiscono una selezione negativa in cui segnali provenienti da altre cellule (quelle che portano un autoantigene legato a una molecola MHC) provocano apoptosi. Presumibilmente le cellule presenti nel timo possono innescare una selezione positiva o negativa in dipendenza dello strato di tessuto fetale primitivo da cui sono derivate: endoderma, mesoderma o ectoderma. Tra gli organi linfatici, il timo è un'eccezione, in quanto contiene cellule che provengono da tutti e tre gli strati. A questo punto, le vie cellulari che si sono separate quando particolari cellule staminali hanno cominciato a differenziarsi in linfociti *B* o *T* si riuniscono nei tessuti periferici. La maggior parte dei rimanenti stadi di sviluppo di entrambi i tipi di cellule si svolge una volta che i loro recettori sono stati attivati da una sostanza estranea.

All'interno degli organi linfatici i linfociti *T* e *B* che hanno raggiunto la maturità, ma non sono ancora impegnati in risposte immunitarie, risiedono in dominî separati. Dopo la stimolazione da parte degli antigeni, le cellule immunitarie che parteciperanno alla produzione di anticorpi subiscono un insieme complesso di interazioni per formare nuove strutture, i centri germinativi.

Tre tipi di cellule attivate si riuniscono in questi centri, all'interfaccia tra i dominî dei linfociti *T* e dei linfociti *B*: si tratta dei linfociti *T* coadiuvanti, dei linfociti *B* e delle cellule dendritiche (un tipo di cellula che presenta l'antigene). Alcuni linfociti *B* proliferano in risposta all'antigene: ben presto i loro cloni costituiscono la maggior parte della popolazione cellulare dei centri germinativi.

Mentre proliferano, i linfociti *B* subiscono anche differenziamento e mutazione. Essi modificano il DNA dei propri segmenti genici per produrre anticorpi simili a quelli che si erano legati all'antigene in questione (ma forse ancora più reattivi). Alcuni linfociti *B* interagiscono con i linfociti *T* coadiuvanti e danno origine alle plasmacellule. Di queste esistono parecchi tipi: gli anticorpi che esse generano reagiscono tutti allo stesso antigene, ma stimolano risposte immunitarie diverse. Altri linfociti *B* ancora diventano «cellule memoria», che non partecipano immediatamente alla difesa dell'organismo, ma conservano una registrazione a livello molecolare dei passati aggressori per accelerare in futuro la risposta al medesimo agente estraneo.

Anche se la risposta immunitaria è orchestrata all'interno degli organi linfatici, i linfociti in attesa di essere chiamati in causa non risiedono esclusivamente in essi. Nel 1959 James L. Gowans e collaboratori dell'Università di Oxford dimostrarono che le cellule immunitarie circolano tra sangue e organi linfatici. Questo traffico offre a ogni organo linfatico una rapida campionatura di tutti i linfociti che potrebbero possedere recettori per quegli antigeni estranei che al momento attraggono l'attenzione dell'organismo.

I linfociti circolanti passano negli organi linfatici per mezzo di vasi sanguigni specializzati, le venule post-capillari. Solo i linfociti possono attraversarle: essi esprimono recettori di orientamento che si adattano a recettori presenti sulle pareti delle venule. Sembra che i recettori dei linfociti siano di due varietà: gli uni servono per orientarsi sui linfonodi e gli altri si adattano a molecole di superficie espresse dagli aggregati linfatici dell'apparato gastrointestinale.

Quando i linfociti *T* e *B* sono attivati, cessano rapidamente di produrre i loro usuali recettori di orientamento e ricominciano a sintetizzare un'altra integrina che producevano all'inizio dello sviluppo. Questa molecola si lega alla VCAM-1, la quale serve per l'adesione alle cellule della parete vascolare (e compare anche sulle cellule stromali del midollo osseo e sulle cellule epiteliali del timo). Di conseguenza i linfociti attivati, quando vengono riversati nel circolo sanguigno, non attraversano più le pareti delle venule post-capillari degli organi linfatici, ma si orientano verso i vasi sanguigni che irrorano tessuti infettati, infiammati e contenenti antigeni: è solo in queste zone infiammate che i vasi possono esprimere la VCAM-1. Ritornando all'espressione cellulare del loro primo sviluppo, i linfociti svolgono quella che è la loro funzione definitiva.

Questa versione molto semplificata dello sviluppo e della maturazione delle cellule del sistema immunitario non chiarisce tutta la storia. Per esempio, numerose altre molecole, che favoriscono l'adesione alle cellule, partecipano alle interazioni fra linfociti e cellule endoteliali o stromali. In verità, rimane ancora molto da apprendere sui mezzi mediante i quali le cellule ricevono i segnali che le fanno andare incontro a una morte programmata, oppure che permettono loro di continuare a vivere, ad accrescersi e a differenziarsi.

Una questione importante è come facciano le cellule staminali a scegliere tra riprodurre se stesse e produrre una discendenza che sia orientata verso una determinata linea di sviluppo. Questo problema non ha solo un significato teorico: se le cellule staminali si dimostrassero utili nell'eliminare immunodeficienze congenite o acquisite, metodi che facessero aumentare il loro numero, o in provetta o *in vivo*, potrebbero accrescere le probabilità di guarigione dei pazienti. Le cellule staminali sono anche un evidente bersaglio per una terapia genica che potrebbe o sostituire un gene difettoso o dotare i discendenti dalle cellule staminali di proprietà che consentano loro di sopravvivere in un ambiente ostile, come è quello di un organismo colpito dall'HIV.

Inoltre, a mano a mano che si acquisirà una conoscenza più completa della via che porta dalle cellule staminali ai linfociti *B* o *T* attivati, si compiranno progressi nel curare le malattie nelle quali questo sviluppo procede in modo pericolosamente distorto. Difetti congeniti o acquisiti in geni essenziali per la crescita e il differenziamento di cellule immunocompetenti possono sfociare in un'immunodeficienza o in neoplasie che si sviluppano negli organi linfatici.

I difetti congeniti possono bloccare lo sviluppo dei linfociti *T* o *B* a molti stadi differenti, a seconda del prodotto del gene in questione. Per esempio, un difetto nel gene che codifica per l'enzima adenosindeamminasi (ADA) consente a sostanze metaboliche tossiche di accumularsi nel midollo osseo e nel timo, impedendo ai linfociti di sintetizzare il DNA e di dividersi. I bambini con questo difetto sono privi di linfociti *T* e *B* e pertanto non possono difendersi dalle infezioni (da qui il nome della loro malattia: immunodeficienza combinata grave, o SCID, dall'inglese *severe combined immunodeficiency disease*). Basandosi sulla conoscenza della funzione delle cellule staminali, Robert A. Good e collaboratori della Medical School dell'Università del Minnesota hanno dimostrato che la SCID può essere curata trapiantando nel paziente midollo osseo compatibile di un fratello sano; sfortunatamente la maggior parte dei pazienti manca di un donatore idoneo. Michael R. Blaese e collaboratori del National Cancer Institute sono riusciti, tuttavia, a inserire un gene per l'ADA funzionante nei linfociti *T* difettosi, riparando così uno dei due rami essenziali del sistema immunitario.

I centri germinativi dei linfonodi, dove convergono i linfociti *T* e *B*, sono sede di una complessa serie di interazioni. Le cellule dendritiche presentano antigeni ai linfociti, favorendone la proliferazione e il differenziamento; alla fine i linfociti *T* maturano in cellule *T* killer e helper; queste ultime interagiscono con i linfociti *B*, alcuni dei quali diventano plasmacellule.

Nella prima metà del 1993 sono stati trovati i geni responsabili di altre tre immunodeficienze; sono tutti localizzati sul cromosoma X e le loro alterazioni interessano i soggetti di sesso maschile (che hanno solo una copia dell'informazione genetica contenuta nel cromosoma X); ciascuna alterazione fa però abortire lo sviluppo del sistema immunitario a un diverso livello. La prima è una mutazione a carico del gene per la proteinchinasi, una sostanza essenziale nella trasmissione di segnali relativi alla crescita e allo sviluppo di cellule pre-*B*; essa provoca un rilevante deficit di linfociti *B* maturi e degli anticorpi che questi secernono. La seconda è una mutazione a carico del gene per una delle tre catene che costituiscono il recettore per l'interleuchina 2, un fattore di crescita; questa alterazione rende difficile lo sviluppo dei linfociti *T* helper, e questo a sua volta impedisce ai linfociti *B* di maturare in plasmacellule. La terza alterazione è un difetto a carico del gene che codifica per le molecole di superficie tramite le quali i linfociti *T* e *B* interagiscono. Nei soggetti di sesso maschile in cui la molecola CD40 o il suo recettore presenta una malformazione vengono prodotti solamente anticorpi IgM; manca così il segnale che induce i linfociti *B* a dividersi e a sintetizzare anticorpi con affinità elevata appartenenti ad altre classi.

L'identificazione di questi geni potrebbe portare, nel caso delle alterazioni sopra citate, a una terapia basata sulla sostituzione di geni. Questi tre difetti sono stati scoperti quasi simultaneamente da parecchi gruppi di ricercatori; può darsi che le conoscenze sullo sviluppo e sul funzionamento del sistema immunitario abbiano ormai raggiunto un livello tale da permettere entro breve tempo di trovare la base genetica di altre deficienze immunitarie. Si avrebbe così la possibilità di aprire la via a nuovi trattamenti terapeutici.

Le neoplasie degli organi linfatici, pur risultando sovente anch'esse da disfunzioni genetiche, differiscono per molti versi dalle immunodeficienze. Un fatto della massima importanza è che una neoplasia richiede l'accumulo di parecchie mutazioni, che favoriscano tutte la crescita eccessiva e la sopravvivenza delle cellule a spese della loro maturazione e morte naturale. Gli organismi pluricellulari complessi hanno sviluppato molti «posti di blocco» per sorvegliare la crescita e la sopravvivenza delle cellule.

Per vincere questo complesso sistema difensivo, la sequenza delle mutazioni che porta alla neoplasia deve generalmente avere origine nelle cellule staminali o nella loro discendenza clonale immediata, al fine di permettere l'evoluzione graduale di un clone di cellule tumorali che possa eludere tutti questi meccanismi di controllo. Anche se un soggetto eredita un gene che predispone a

una neoplasia, le cellule interessate, per diventare tumorali, devono subire ulteriori mutazioni nell'arco della loro esistenza. Tuttavia, una volta avvenuta una mutazione che favorisce la crescita o la sopravvivenza cellulare, aumentano le probabilità che una cellula viva abbastanza a lungo da subire un'altra mutazione che promuova anch'essa la crescita, e poi ancora una terza e una quarta mutazione.

Questo principio può essere osservato nel linfoma follicolare, una neoplasia a sviluppo estremamente lento dei linfociti *B* che si trovano nei centri germinativi. Pressoché tutti i linfomi follicolari contengono una traslocazione del gene *bcl-2* che produce un messaggero chimico il quale impedisce la morte cellulare programmata. Il gene è generalmente inibito quando un linfocita *B* attivato non riesce a riconoscere un antigene, oppure rimescola i propri minigeni in modo da produrre anticorpi che reagiscono con il sé; nelle cellule del linfoma follicolare, però, esso si trova vicino a un gene per un anticorpo che viene attivato nei linfociti *B*, e così rimane in questo stato indefinitamente.

Questa via a più stadi che conduce alla condizione neoplastica può anche spiegare perché le neoplasie a carico dei linfociti *B* siano quattro volte più frequenti di quelle che coinvolgono i linfociti *T*. Le cellule staminali del midollo osseo producono linfociti *B* per tutta la vita (e dispongono così di parecchi anni per accumulare mutazioni). Per contro, la maggior parte dei linfociti *T* è prodotta in una fase precoce dell'esistenza; il timo si riduce con il passare degli anni, lasciando un minor numero di cellule staminali e di loro discendenti che possono mutare.

Quando la biologia dello sviluppo e la biologia molecolare avranno consentito di conoscere quali siano i segnali che guidano le cellule staminali e le loro intricate linee di discendenza, si potrà manipolare dall'esterno lo sviluppo del sistema immunitario. Sarà allora possibile rafforzare la risposta agli agenti invasori, mitigare il danno che le cellule immunitarie provocano al sé e correggere o eliminare quelle linee cellulari che altrimenti propagherebbero famiglie intere di neoplasie.

BIBLIOGRAFIA

VON BOEHMER HARALD e KISIELOW PAWEL, *Come il sistema immunitario impara a riconoscere il sé* in «Le Scienze», n. 280, dicembre 1991.

GOLDE DAVID W., *La cellula staminale* in «Le Scienze», n. 282, febbraio 1992.

RAJEWSKY KLAUS e VON BOEHMER HARALD, *Lymphocyte Development* in «Current Opinion in Immunology», 5, n. 2, aprile 1993.

Come il sistema immunitario riconosce gli invasori

Le cellule del sistema immunitario ricorrono alla ricombinazione di frammenti genici per creare i recettori necessari a identificare e attaccare gli agenti patogeni a cui l'organismo può trovarsi esposto

di Charles A. Janeway, Jr.

Trentasei anni fa in «Scientific American» venne pubblicato un articolo intitolato *Agammaglobulinemia*, di cui mio padre era uno degli autori. In esso veniva descritta una malattia dovuta a un difetto delle difese dell'organismo contro le infezioni, una carenza nel meccanismo immunitario che individua gli agenti patogeni. Il lavoro di mio padre e di Ogden Bruton nell'identificare per la prima volta una patologia dovuta a immunodeficienza contribuì a inaugurare un settore della ricerca che ci ha condotti a conoscere in dettaglio come il sistema immunitario riconosca e distingua le molecole dell'organismo da quelle di un invasore, batterio, virus o parassita che sia.

Le persone affette da agammaglobulinemia non sintetizzano molecole di anticorpi. Queste proteine, presenti nel sangue e nel liquido extracellulare, normalmente si legano ai batteri o ai virus che causano le infezioni e fungono da segnale di attacco per le molecole e le cellule del sistema immunitario. La capacità degli anticorpi di identificare molecole estranee e quindi dirigere le difese dell'organismo conferisce vantaggi importanti: ci permette infatti di eliminare le infezioni, di resistere a una reinfezione e di essere protetti dalla vaccinazione.

Alcuni di questi stessi meccanismi, purtroppo, possono scatenare una malattia anziché controllarla. Il sistema immunitario può, per esempio, reagire a una sostanza estranea innocua, come il polline, dando origine a una allergia. Un fenomeno più grave si ha quando l'attacco immunitario si concentra sui tessuti stessi dell'organismo e provoca una malattia autoimmune. Ma, sia che contribuiscano a mantenerci in buona salute, sia che causino una malattia, i meccanismi di riconoscimento e risposta sono gli stessi. I processi che permettono il riconoscimento di sostanze estranee sono quindi fondamentali per capire come funzioni il sistema immunitario, e come a volte esso possa fallire.

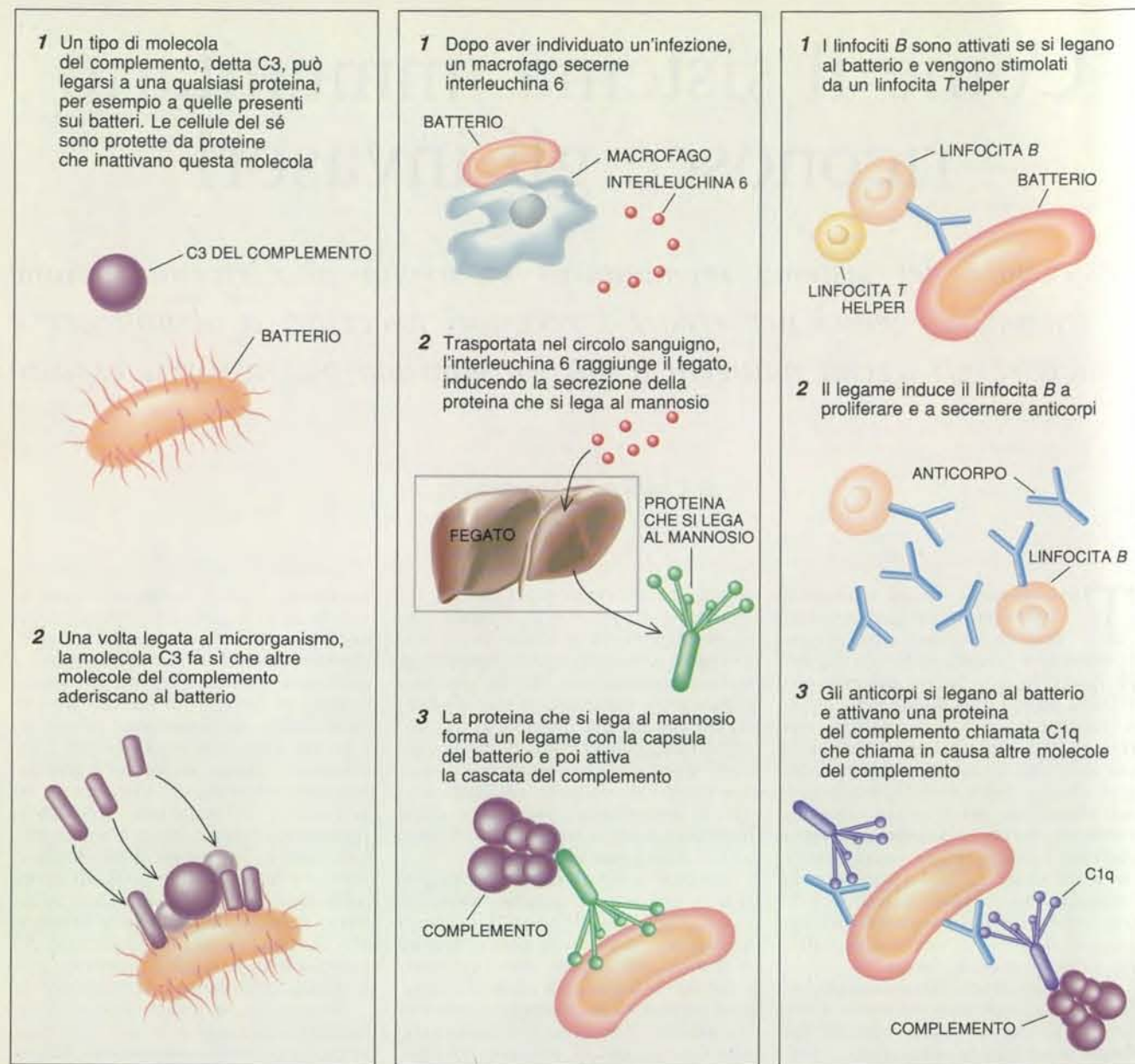
Nel seguito descriverò i due principali sistemi con cui l'organismo identifica materiale estraneo. Il primo è il sistema immunitario innato; con questo termine si intende sottolineare che l'individuo nasce con la capacità di riconoscere immediatamente e di distruggere certi microrganismi. Il secondo è il sistema immunitario adattativo, nel quale gli anticorpi hanno un ruolo fondamentale. I recettori coinvolti nella risposta immunitaria adattativa sono formati unendo insieme segmenti genici. Ogni cellula usa in modo diverso i pezzi disponibili per costruire un recettore diverso da tutti gli altri, il che consente alle cellule di riconoscere tutti gli organismi infettivi che l'individuo incontrerà nel corso dell'esistenza. La conoscenza dei geni, delle molecole e delle cellule che compongono il sistema immunitario ha permesso di determinare l'eziologia di molte malattie, compresa l'agammaglobulinemia, e di iniziare la ricerca di terapie efficaci.

Le cellule *T* (*in giallo*), un tipo di linfocita, utilizzano speciali recettori posti alla propria superficie per individuare un macrofago infettato (*in blu*). I linfociti *T* rappresentano solo una parte delle armi di cui il sistema immunitario dispone per riconoscere gli agenti patogeni.

Il sistema immunitario innato può distruggere molti agenti patogeni al primo incontro. Un'importante componente della risposta immunitaria innata è il complemento, una classe di proteine ematiche il cui nome deriva dalla loro capacità di assistere l'attività degli anticorpi nel combattere l'infezione. Scoperto nel 1900 dal batteriologo belga Jules Bordet, il complemento può agire in vari modi. In seguito a stimolazione chimica, un tipo di proteina del complemento acquisisce la capacità di legarsi a qualunque altra proteina, sia che appartenga a un batterio sia che faccia parte delle cellule dell'organismo, favorendo l'attività delle altre molecole del complemento. Queste molecole legate attraggono i fagociti, che inglobano e digeriscono i microrganismi ricoperti da proteine del complemento. Un altro metodo con cui le proteine possono eliminare cellule estranee è quello di aprire nella membrana lipidica fori che consentono l'ingresso dell'acqua, un processo che distrugge la cellula. L'attività del complemento protegge da malattie quali la meningite batterica e la gonorrea.

Tuttavia questo potente sistema di attacco non distrugge le cellule dell'organismo in quanto, al contrario dei microrganismi, queste sono dotate di proteine che inattivano il complemento. Così, al livello più semplice, l'immunità innata distingue le molecole che compongono l'organismo, il cosiddetto «sé», da tutte le altre, ossia il «non sé».

Non tutti gli agenti patogeni vengono eliminati così facilmente dal complemento; alcuni hanno escogitato metodi per evitarne l'attacco. I batteri che causano la polmonite e alcune infezioni del cavo orale sono dotati di una capsula, ossia un rivestimento costituito da lunghe catene di molecole glucidiche (polisaccaridi), che impedisce al complemento di agire direttamente su di essi.

Il sistema immunitario innato ha due modi per far fronte a questi tipi di batteri. In primo luogo, tutti i tessuti dell'organismo contengono i grandi fagociti chiamati macrofagi, che hanno recettori per alcuni di questi polisaccaridi e li usano per legarsi ai batteri e ingerirli. In secondo luogo, i macrofagi che incontrano i batteri possono secernere inter-

L'attività del complemento può essere innescata in tre modi. Esso può agire direttamente sui batteri (*a sinistra*), o essere attivato da una proteina che si lega al mannosio (*al centro*). Anche gli anticorpi prodotti in seguito a un'infezione possono attivare il complemento (*a destra*) che, allora, elimina i batteri o recluta altre cellule del sistema immunitario, come i fagociti.

leuchina 6, una proteina che stimola il fegato. Essa induce la secrezione di un'altra proteina che è in grado di legarsi ai residui glucidici di mannosio sporgenti dalla capsula batterica. Dopo che la proteina si è legata al batterio, la sua forma cambia in modo da attivare la cascata del complemento e indurre i fagociti all'azione. In questo modo la proteina che si lega al mannosio segnala all'organismo le particelle da attaccare.

L'immunità innata, tuttavia, non può proteggere da tutte le infezioni. I microrganismi evolvono rapidamente, il che permette loro di trovare nuovi modi per eludere le difese innate di specie che evolvono più lentamente, come l'uomo.

Per compensare, i vertebrati hanno una speciale strategia di riconoscimento immunitario: l'immunità adattativa. Grazie a questa l'organismo riconosce e attacca qualsiasi microrganismo, anche se non ha mai dovuto affrontarlo in precedenza.

L'immunità adattativa funziona tramite il processo della selezione clonale, proposto negli anni cinquanta da Sir Frank Macfarlane Burnet del Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research in Australia. Nel corso della selezione clonale le cellule del sistema immunitario adattativo, i linfociti *B*, producono anticorpi e li espongono alla superficie cellulare; l'anticorpo funge allora da recettore. Ogni cellula *B* produce un recettore diverso, cosicché ognuna riconosce una molecola estranea diversa. Armati di questi recettori, i linfociti *B* sono sempre in guardia contro i microrganismi. Se un linfocita *B* intercetta un intruso, comincia a dividersi rapidamente; le cellule figlie così generate, che derivano tutte da una stessa cellula parentale, costituiscono un clone (da qui il termine «selezione clonale»). Tutte le cellule di un clone hanno un recettore identico. I linfociti *B* del clone si differenziano poi in cellule che secernono anticorpi, i quali, come il recettore del linfocita *B*, si legano ai microrganismi. Una volta marcati come estranei dagli anticorpi, i microrganismi vengono eliminati a opera dei fagociti e del sistema complemento.

Per capire l'immunità adattativa occorre spiegare come i linfociti *B* possano generare tanti recettori differenti. Più specificamente, come è possibile che nello spazio limitato di un genoma siano codificati i milioni di recettori diversi necessari per riconoscere tutti i microrganismi? Un essere umano ha solo circa 100 000 geni, ma i 10 000 miliardi di linfociti *B* di un individuo possono produrre più di 100 milioni di anticorpi distinti in ogni momento. Ovviamente non possiamo ereditare i geni necessari per specificare tutte queste proteine.

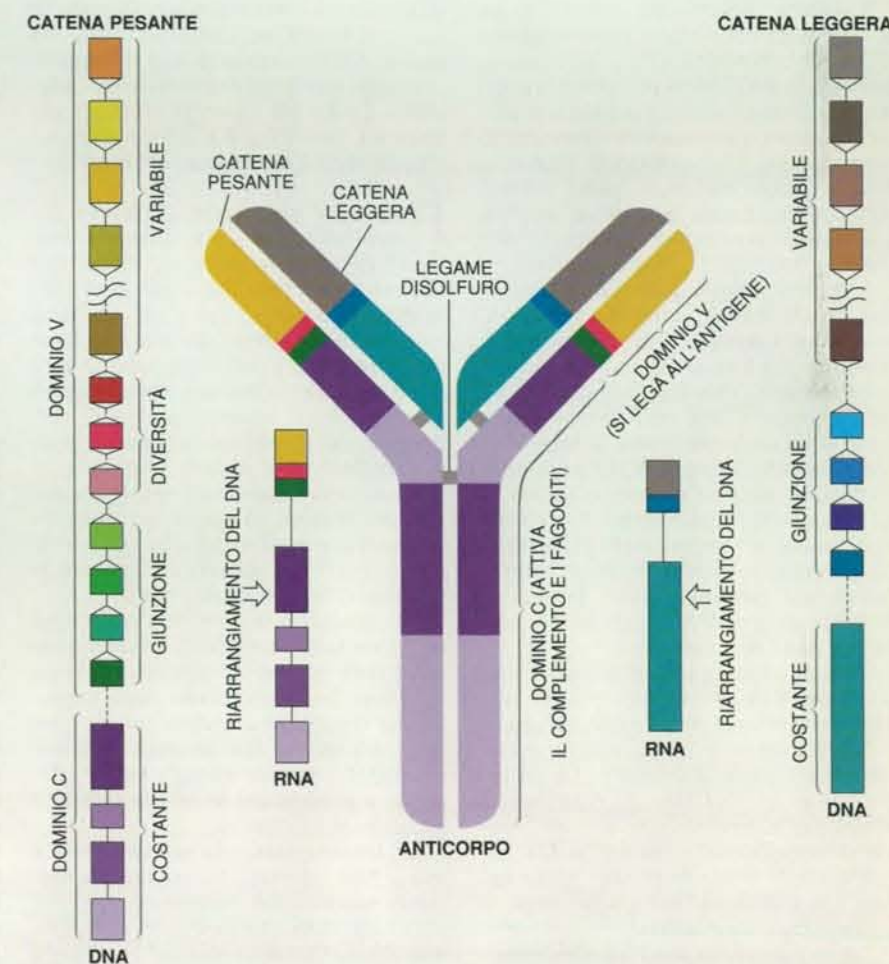
La risposta, di recente scoperta, fa capo all'identificazione dei geni che codificano per gli anticorpi e i recettori delle cellule *B*. Un'osservazione chiave fu fatta nel 1976 da Susumu Tonegawa, allora all'Istituto di immunologia di Basilea. Egli dimostrò infatti che i geni per gli anticorpi sono ereditati in forma di segmenti genici, i quali vengono riuniti a formare un gene completo solo nei singoli linfociti, durante il loro sviluppo.

Il processo di giunzione stesso genera ulteriore diversità. Nel 1980 Fred Alt e David Baltimore del Massachusetts Institute of Technology dimostrarono che gli enzimi che combinano i segmenti genici aggiungono a caso basi del DNA alle estremità delle parti da unire. Il risultato è la formazione di nuovi geni, ciascuno dei quali codifica per una catena proteica. Ulteriore diversità nasce dall'assemblaggio delle catene proteiche in un recettore completo. Gli anticorpi sono costituiti da due coppie di catene proteiche: una catena pesante e una leggera. Le catene pesanti sono collegate in modo da formare una Y, e le catene leggere si situano sui rami superiori, accanto a quelle pesanti. Ogni linfocita *B* produce solo un tipo di catena leggera e uno di catena pesante, cosicché ciascuna cellula crea un anticorpo diverso da tutti gli altri. In effetti 1000 catene diverse di ciascun tipo possono in teoria formare un milione di combinazioni. Tutti questi processi casuali di giunzione possono dare origine a un numero di molecole distinte di anticorpo superiore a quello dei linfociti *B* presenti nell'organismo.

Come se questi processi non generassero una sufficiente diversità, i geni per i recettori dei linfociti *B* mutano in maniera molto rapida quando il linfocita è attivato dal legame con una sostanza estranea, o antigene. Queste «ipermutazioni» danno luogo a ulteriori recettori. In effetti il sistema immunitario sperimenta costantemente lievi variazioni di recettori ben riusciti, alla ricerca di una risposta immunitaria ottimale.

Una volta che un linfocita *B* ha legato un antigene al proprio recettore, si differenzia e secerne molecole di anticorpo - una forma solubile del recettore - nel plasma, la componente liquida del sangue. Dato che questo nuovo anticorpo è specificato dai geni che hanno creato il recettore sulla cellula *B* originaria, ne possiede l'identica specificità. Ma un linfocita *B* e la sua progenie possono produrre un diverso tipo di variazione della molecola di anticorpo; ciò avviene con l'alterazione della parte costante della catena pesante, compiuta ancora per riarrangiamento genico. Questo secondo tipo di manipolazione genica produce anticorpi che migrano in diverse regioni dell'organismo e che continuano a riconoscere gli stessi antigeni. Dopo essersi legati a un microrganismo, questi anticorpi possono dare inizio alla cascata del complemento, attivare i fagociti o causare reazioni allergiche.

L'immunità adattativa è anche la fonte della memoria immunologica, ossia il processo per cui un individuo resiste a infezioni che ha già subito in maniera molto più efficiente ed energica che non a infezioni fronteggiate per la prima volta. L'organismo possiede questa memoria perché conserva i linfociti che hanno reagito all'infezione iniziale. Queste cellule possono essere rapidamente riattivate in caso di invasione da parte degli stessi tipi di microrganismi, e gli anticorpi che esse producono prevengono il ripresentarsi della malattia. (Invece il sistema immunitario innato non discrimina un microrganismo dall'altro e quindi non conferisce una protezione maggiore o minore dopo un'infezione.)

I benefici dell'immunità adattativa sono in parte compensati da due svantaggi. In primo luogo, occorrono più di cinque giorni per organizzare una risposta anticorpale, dato che i linfociti *B* hanno bisogno di proliferare e di differenziarsi per poter produrre anticorpi; allora l'organismo deve affidarsi al sistema immunitario innato per tenere a bada le infezioni. In secondo luogo, dato che qualsiasi macromolecola, per esempio una proteina o un polisaccaride, può essere riconosciuta da un anticorpo, la risposta immunitaria adattativa talora produce anticorpi diretti contro le cellule dell'organismo. Questi anticorpi attivano il complemento in modo così efficiente che il sistema che impedisce a quest'ultimo di attaccare le cellule dell'organi-

Una molecola di anticorpo è costituita da una coppia di catene pesanti e una coppia di catene leggere. Le catene sono codificate da geni che consistono in segmenti diversi di DNA; il riarrangiamento di questi segmenti produce geni per le catene che sono differenti da un linfocita *B* all'altro. La giunzione dei differenti pezzi è variabile, cosicché un piccolo numero di segmenti genici è in grado di generare i 100 milioni di anticorpi distinti che si stima l'organismo sia capace di produrre.

smo è sopraffatto: la conseguenza è l'insorgere di una malattia autoimmune. L'attacco al sé è normalmente evitato grazie alla tolleranza, che elimina le cellule che reagiscono agli autoantigeni.

Nonostante questi svantaggi, la strategia del riarrangiamento genico nell'immunità adattativa ha dotato l'organismo di un ingegnoso sistema di protezione. In che modo un processo così elaborato si è affermato nei vertebrati, diventando la base dell'immunità adattativa? Come tutti i problemi evoluzionistici, anche questo si può risolvere solo in termini di modelli, e non con assoluta certezza; ma la nostra conoscenza dei recettori indica uno scenario plausibile.

Tutti i recettori immunitari sono costituiti da blocchi proteici simili, ognuno dei quali è codificato in un tratto di DNA denominato esone, o sequenza codificante. Gli esoni sono separati da introni, regioni di DNA non codificante trascritto in RNA e poi rimosso nel processo di taglio e ricucitura dell'RNA. Quindi i blocchi codificanti vengono a formare un messaggio ininterrotto.

Ciascuna componente proteica di un anticorpo ha una «piega» immunoglobulinica che, come struttura generica, è presente in molte altre proteine oltre agli anticorpi; essa forma un dominio proteico compatto comprendente filamenti di amminoacidi che giacciono fianco a fianco. Negli anticorpi questi dominî formano le catene pesante e leggera, connesse da una coppia di atomi di zolfo che costituiscono un ponte disolfuro.

I dominî immunoglobulinici sono di due tipi: il tipo V (variabile) e il tipo C (costante). I dominî V degli anticorpi si appaiano per formare il sito che riconosce l'antigene; essi sono seguiti da coppie di dominî C che mediano varie funzioni della molecola, come il legame al complemento. I dominî V sono costituiti da parti di geni: un segmento genico V, un segmento J (giunzione) e qualche volta anche un segmento D (diversità). La particolare variabilità dei dominî V deriva dal riarrangiamento genico, il processo a cui si deve la grande diversità dei recettori nell'uomo.

Alcune proteine hanno dominî simili ai dominî V degli anticorpi, ma che non sono prodotti per riarrangiamento genico. In queste proteine un singolo esone specifica l'intero dominio V; un esempio è la molecola CD4, che contribuisce al riconoscimento immunitario ed è anche il bersaglio del virus dell'AIDS. Simili esoni V intatti si trovano anche nei geni che codificano per gli anticorpi di alcuni vertebrati primitivi.

I nostri geni V in grado di riarrangiarsi si sono probabilmente evoluti da questi geni V intatti. Il riarrangiamento genico potrebbe essersi manifestato quando un frammento mobile di DNA, o trasposone, si è inserito in un esone V intatto, spezzandolo. I geni spezzati sono inattivi: possono produrre anticorpi solo dopo che il trasposone intercalare è rimosso e i segmenti genici sono riuniti a riformare l'esone intatto. Un meccanismo di rimozione analogo funziona nel nostro organismo quando i linfociti *B* generano i propri recettori. Così il riarrangiamento del gene V non si limita a generare diversità negli anticorpi, ma è anche fondamentale per formare i geni che codificano per le proteine anticorpali. In assenza di riarrangiamento, questi geni non produrrebbero proteine.

Il riarrangiamento genico si è rivelato un mezzo così potente per esprimere solo un gene di una famiglia di geni correlati che almeno un agente patogeno lo utilizza per evitare l'individuazione da parte del sistema immunitario. Il tripanosoma, l'agente della malattia del sonno, ha un rivestimento costituito da una singola proteina contro la quale l'ospite infettato produce anticorpi. Questi ultimi eliminano gran parte dei tripanosomi, ma alcuni parassiti riescono a cambiare il proprio rivestimento riarrangiando il relativo gene. Questi tripanosomi sfuggono all'individuazione da parte della prima ondata di anticorpi e continuano a proliferare. L'ospite produce di volta in volta anticorpi per ogni variante, ma nuove forme continuano a insorgere, causando una serie di recidive dell'infezione. Come nel caso dei recettori immunitari, anche qui è il riarrangiamento a controllare l'espressione genica.

Finora si è visto come il sistema immunitario innato, che si basa su molecole di riconoscimento ereditate, e il sistema adattativo, che si affida al riarrangiamento genico per generare nuovi recettori nei linfociti, lavorino insieme per identificare i microrganismi. Questo attacco può riuscire solo contro agenti patogeni che si trovano nei liquidi dell'organismo. Molti microrganismi però si annidano nelle cellule prima che si possano sintetizzare anticorpi. In quanto proteine solubili in acqua, gli anticorpi possono permeare il liquido extracellulare e il sangue, ma non attraversare la membrana lipidica delle cellule.

Di conseguenza il sistema immunitario ha evoluto uno speciale meccanismo a due stadi per individuare infezioni nelle cellule. Nel primo stadio viene segnalato all'organismo che certe cellule sono state infettate e nel secondo vengono mobilizzate cellule specificamente deputate a riconoscere le cellule colpite e a eliminare l'infezione.

Lo stadio iniziale, la segnalazione di una cellula infettata, è compiuto da molecole speciali che trasportano parti del microrganismo alla superficie della cellula stessa. Queste molecole sintetizzate nel reticolo endoplasmatico cellulare si legano a peptidi, piccoli frammenti proteici che sono stati degradati nella cellula, e dopo il legame con i peptidi migrano verso la superficie cellulare.

Le molecole trasportatrici - proteine del maggior complesso di istocompatibilità (MHC) - furono scoperte dal compianto genetista britannico Peter Gorer e da George D. Snell del Jackson Laboratory di Bar Harbor, nel Maine, che le identificarono come causa del rigetto dei trapianti; da qui il loro nome, che unisce il greco *isto* (tessuto) con l'indicazione della capacità di essere compatibile. Le molecole MHC si possono dividere in due classi, definite molecole MHC di classe I e di classe II. Le molecole di classe I si trovano su quasi tutti i tipi di cellule dell'organismo, mentre quelle di classe II appaiono solo su cellule coinvolte nella risposta immunitaria, come i macrofagi e i linfociti *B*.

Come i peptidi sono portati alla superficie cellulare

Le proteine virali prodotte da una cellula infettata (*1*) sono degradate in peptidi (*2*); questi vengono introdotti nel reticolo endoplasmatico, dove le molecole MHC di classe I si formano intorno a essi (*3*). Ciascun complesso migra poi alla superficie cellulare. Qui può essere individuato da un linfocita *T* killer, che esprime una proteina CD8 (*4*). Il linfocita *T* secerne allora composti che distruggono la cellula infettata (*5*).

I batteri che infettano un macrofago risiedono in vescicole intracellulari (*1*). Una molecola MHC di classe II, prodotta nel reticolo endoplasmatico, è trasportata verso la vescicola (*2*). Una catena proteica (*riga in nero*) mantiene inattiva la molecola finché questa non arriva alla vescicola. Qui la catena si stacca, permettendo alla molecola MHC di classe II di legarsi a qualunque peptide presente (*3*). Il complesso si trasferisce allora alla superficie cellulare, dove un linfocita *T* CD4 infiammatorio si lega al peptide (*4*). Il linfocita *T* attiva allora il macrofago, segnalandogli di distruggere il materiale contenuto nella vescicola (*5*).

Un anticorpo che si trova sulla superficie di un linfocita *B* funge da recettore per il linfocita. Se l'anticorpo scopre un antigene estraneo nel circolo sanguigno, si lega a esso (*1*), e trasporta l'antigene in una vescicola intracellulare dove quest'ultimo viene spezzato in peptidi (*2*). Una molecola MHC di classe II, prodotta nel reticolo endoplasmatico, migra nella vescicola, dove «afferra» un peptide (*3*). Successivamente la molecola MHC trasporta il peptide alla superficie della cellula (*4*). Qui un linfocita *T* CD4 helper si lega all'antigene e produce molecole che indicano al linfocita *B* di proliferare e sintetizzare anticorpi (*5*).

Sebbene i due tipi di molecole MHC siano strutturalmente distinti, studi pubblicati nel luglio 1993 dal gruppo di Jerry H. Brown e Don C. Wiley della Harvard University, e lavori precedenti di Pamela J. Bjorkman, ora al California Institute of Technology, e colleghi hanno dimostrato che esse si avvolgono in maniera molto simile (*si veda l'illustrazione a pagina 46*). Ogni molecola MHC ha un profondo incavo nel quale può legarsi un piccolo peptide. Dato che questo peptide non fa parte della molecola MHC, può essere diverso da una molecola all'altra. Nelle cellule sane tutti questi peptidi provengono da proteine del sé; è la presenza di peptidi estranei nell'incavo delle molecole MHC a segnalare al sistema immunitario che la cellula è infettata.

I complessi peptide estraneo-MHC presentati da una cellula infettata sono riconosciuti da recettori che si trovano su un tipo distinto di linfocita, detto cellula *T*. La struttura dei recettori dei linfociti *T* è essenzialmente la stessa della molecola di anticorpo legata alla membrana che funge da recettore sui linfociti *B*; ma i recettori dei linfociti *T* sono specializzati a riconoscere solo frammenti di peptidi estranei legati a molecole MHC. Quando un recettore di un linfocita *T* si lega al suo specifico complesso peptide estraneo-MHC, il linfocita entra in azione per riparare o uccidere la cellula infettata.

Le due diverse classi di molecole MHC presentano peptidi che hanno origine in regioni differenti della cellula. Le molecole di classe I si legano a peptidi derivati da proteine nel comparto citosolico cellulare; queste proteine sono digerite entro la cellula nell'ambito del processo naturale con cui essa rinnova continuamente il proprio contenuto proteico. James Shepherd, che lavora nel mio laboratorio alla Yale University, ha dimostrato recentemente che i brevi

frammenti peptidici che sono il risultato di questo processo vengono pompati, a opera di un trasportatore distinto, dal citosol al reticolo endoplasmatico.

Qui le molecole MHC di classe I vengono sintetizzate come lunghe catene di amminoacidi che devono avvolgersi per formare la proteina MHC matura. L'avvolgimento può avvenire solo intorno a un peptide adatto (*si veda l'illustrazione alle pagine 44-45*). I peptidi qui trasportati, dunque, fungono da nuclei di aggregazione.

L'avvenuto avvolgimento di una molecola MHC di classe I intorno a un peptide segnala alla molecola di trasportare il peptide alla superficie cellulare e di mantenerlo in questa sede. Se il peptide è estraneo - derivato per esempio da un virus che infetta la cellula - allora un linfocita *T* di passaggio può riconoscerlo. Le cellule *T* che agiscono in questo modo sono quelle dotate di proteine CD8 sulla loro superficie. I linfociti *T* CD8 organizzano una risposta immunitaria contro la cellula infettata, liberando sostanze chimiche che la distruggono totalmente; dato che essi sono programmati per uccidere le cellule che espongono peptidi estranei, vengono a volte denominati linfociti *T killer*. Questa risposta è l'unico modo efficace per impedire la produzione di altre particelle virali da parte delle cellule infettate.

Naturalmente non tutti i microrganismi si sviluppano nel comparto citosolico cellulare; alcuni batteri, come i micobatteri che causano la tubercolosi, crescono in vescicole intracellulari separate dal resto della cellula per mezzo di una membrana. I macrofagi, che inglobano i batteri e costituiscono naturalmente un veicolo per queste infezioni, tendono a essere infettati in questo modo. I batteri nelle vescicole intracellulari producono proteine che sono degradate a peptidi nell'interno della vescicola; questi peptidi si legano alle molecole MHC di classe II, che dunque migrano verso le vescicole dal loro punto di origine nel reticolo endoplasmatico.

Al contrario delle molecole MHC di classe I, che devono maturare intorno a un peptide, quelle di classe II sono già pronte a entrare in azione dal momento in cui sono sintetizzate. Peter Cresswell, ora a Yale, ha dimostrato che una speciale catena di amminoacidi nel reticolo endoplasmatico blocca la capacità di legame delle molecole MHC di classe II fino a che queste raggiungono le vescicole. Questa catena aggiuntiva allora si separa, permettendo alle molecole MHC di classe II di «afferrare» qualunque peptide trovino.

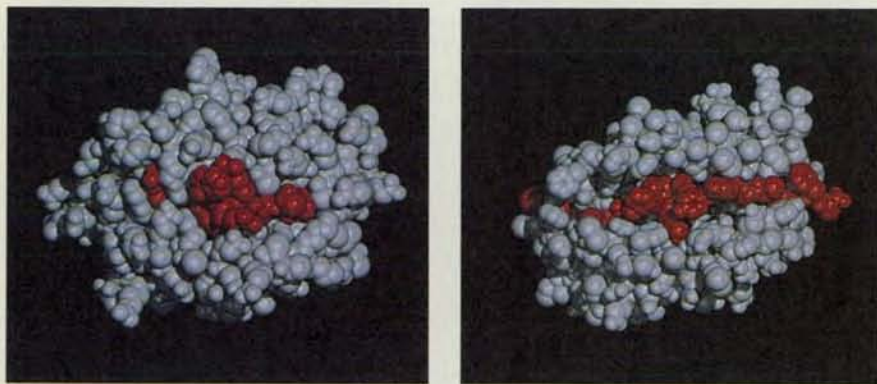
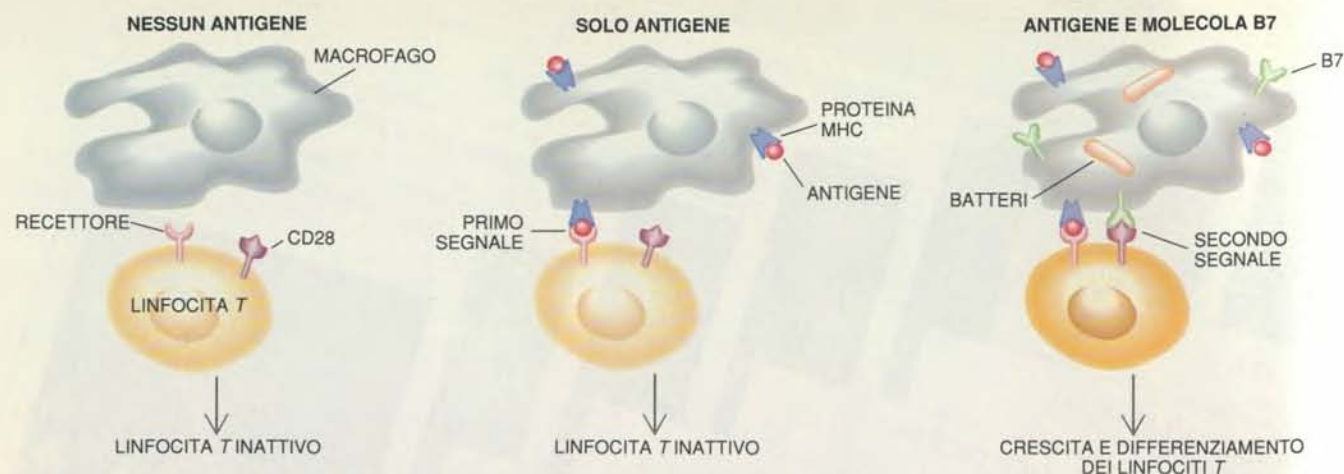
La molecola MHC di classe II trasporta allora il peptide alla superficie cellulare, dove esso può essere riconosciuto dai linfociti *T* che hanno alla loro superficie la proteina CD4. Al contrario dei linfociti *T* CD8, i CD4 non uccidono direttamente la cellula, ma attivano invece le cellule che hanno presentato il peptide. Per esempio, un tipo di cellula *T* CD4, la cellula *T* infiammatoria (o Th1), può stimolare un macrofago a uccidere i micobatteri contenuti nelle proprie vescicole. È la distruzione di questa classe di linfociti *T* CD4 a rendere i pazienti affetti da AIDS tanto sensibili a malattie come la tubercolosi.

Un altro tipo di linfocita *T* CD4 - la cellula *T helper* (o Th2) - dirige l'attività dei linfociti *B*. Quando una proteina si lega a un recettore dei linfociti *B*, viene trasportata in una vescicola, dove è tagliata in peptidi che si legano alle molecole MHC di classe II. Questi complessi sono poi trasportati alla superficie cellulare, in modo che possano essere riconosciuti dai linfociti *T* helper che segnalano ai linfociti *B* di cominciare a produrre anticorpi, ma attivano solo le cellule *B* legate all'antigene. Così, anche la produzione di anticorpi è controllata dalle molecole MHC e dai linfociti *T*.

I geni che codificano per le molecole MHC sono i più variabili del genoma umano. Proprio questa peculiarità potrebbe aver permesso a *Homo sapiens* di sopravvivere a tanti agenti patogeni. Al contrario dei geni per i recettori degli antigeni, che variano da cellula a cellula, i geni MHC sono gli stessi in tutte le cellule di un individuo, ma differiscono da persona a persona. Ogni variante di una molecola MHC si lega a peptidi diversi perché le variazioni geniche influiscono soprattutto sulla struttura dell'incavo che trattiene il peptide.

La variabilità genetica delle molecole MHC implica che almeno alcuni individui avranno molecole MHC che si legano ai peptidi di qualsiasi agente patogeno, anche via via che la struttura delle proteine microbiche si evolve. In effetti A. V. Hill dell'Università di Oxford ha studiato di recente una popolazione esposta da molte centinaia di anni a *Plasmodium falciparum*, il parassita che causa la malaria. Egli ha scoperto che la percentuale di persone le cui molecole MHC si legano in modo molto forte a peptidi del parassita è aumentata nel corso del tempo. I linfociti *T* riescono a riconoscere anche queste differenze genetiche nelle molecole MHC, il che spiega la ragione del rigetto dei trapianti di tessuti: le cellule *T* dell'ospite considerano estranei i peptidi legati a una molecola MHC diversa e quindi uccidono il tessuto trapiantato.

Il legame di un antigene al recettore è solo l'inizio della risposta immunitaria. Perché un linfocita *B* produca anticorpi, o un linfocita *T* liberi le proprie molecole killer o helper, il nucleo della cellula deve sapere che si è stabilito un legame alla superficie cellulare. I recettori dei linfociti sono costituiti da proteine che interagiscono per inviare un messaggio biochimico all'interno della cellula. Il legame di un recettore con un antigene fa sì che altre proteine della membrana cellulare attivino le chinasi, enzimi che addizionano gruppi fosfato ad altre proteine all'interno della cellula. L'aggiunta di gruppi fosfato altera l'attività di queste proteine, e segnala alla cellula di crescere e differenziarsi. Le proteine CD4 e CD8 dei linfociti *T*, come pure una proteina dei linfociti *B*, la CD19, sono esempi di proteine di membrana accoppiate a chinasi intracellulari. Un altro tipo di molecola che entra in azione è CD45, un enzima che contribuisce a mediare l'attivazione dei linfociti rimuovendo i gruppi fosfato da certe proteine e quindi disattivandole.

Di per sé i segnali mediati dalle chinasi non possono attivare i linfociti. Per proliferare essi devono ricevere un secondo segnale da altre cellule dell'organismo; questi messaggi sono spesso chiamati segnali costimolatori. I linfociti *B* hanno bisogno dei linfociti *T* helper per riconoscere l'antigene e per sintetizzare una proteina - il ligando CD40 - che

Il maggior complesso di istocompatibilità (MHC) produce due tipi di molecole: quelle di classe I (*a sinistra*) e quelle di classe II (*a destra*). Le due immagini mostrano come un recettore dei linfociti *T* «vede» queste molecole. Le molecole MHC di classe I possono trattenere soltanto piccoli peptidi (*in rosso*) perché il sito di legame è delimitato; invece le molecole MHC di classe II possono legarsi a peptidi di varie lunghezze in quanto il loro sito di legame è aperto a entrambe le estremità.

La stimolazione da parte di due molecole è necessaria per attivare i linfociti. Sono qui rappresentati un linfocita *T* CD8 e un macrofago. In assenza di antigeni, il linfocita *T* è quiescente (*a sinistra*). Tuttavia il solo antigene non può attivare il linfocita *T* (*al centro*). Così non si ha una risposta immunitaria contro un antigene dell'organismo; anzi, questo primo segnale, qualora compaia da solo, disattiva il linfocita *T*. Un macrofago infettato produce una molecola denominata B7, che agisce sulla proteina di superficie CD28 del linfocita *T* (*a destra*). Solo quando un antigene e la molecola B7 sono presenti sulla stessa cellula si ha proliferazione del linfocita *T*.

si lega alla molecola CD40 del linfocita *B*. Le cellule *T* si affidano soprattutto alle cosiddette molecole B7 come segnali costimolatori; queste molecole sono espresse dalle stesse cellule che presentano l'antigene. Yang Liu, ora al New York University Medical Center, dimostrò che B7 viene espressa quando il sistema immunitario innato riconosce che sono presenti microrganismi, vale a dire, di solito, nelle prime fasi di un'infezione. In effetti il sistema innato potrebbe preparare all'azione il sistema adattativo. In questo modo i segnali costimolatori possono anche aiutare la risposta immunitaria adattativa a differenziare i microrganismi infettivi dai tessuti del sé. I linfociti che si legano a un antigene, ma non ricevono costimolazione, non sono attivati; di conseguenza, i soli autoantigeni non dovrebbero essere in grado di indurre una risposta immunitaria.

Una volta che un linfocita si è legato all'antigene e ha ricevuto costimolazione, si differenzia e diventa attivo. (Le versioni attive dei linfociti sono a volte chiamate cellule effettrici, in quanto mediano effettivamente la risposta immunitaria.) Una volta attivata, la cellula non ha più bisogno del segnale costimolatorio. Così, sebbene solo le cellule che esprimono segnali costimolatori possano indurre una risposta immunitaria, qualsiasi cellula o molecola può esserne il bersaglio. Questa risposta è importante perché consente ai linfociti *B* e *T* di attaccare qualunque cellula che sia stata infettata, indipendentemente dal tipo.

Perciò qual è il problema dei pazienti affetti da agammaglobulinemia, una patologia in cui non vengono sintetizzati anticorpi? La risposta è stata scoperta solo di recente. Si è visto che durante lo sviluppo dei linfociti *B* in individui sani il riarrangiamento dei geni per i recettori è accuratamente regolato; in altri termini, i recettori devono essere sintetizzati con precisione. Il gene V per ciascuna catena deve essere riarrangiato nella sequenza esatta, e il recettore non può essere completato finché tutti i riarrangiamenti sono stati eseguiti correttamente.

Così, per costruire i recettori in maniera esatta, la cellula deve determinare lo stato dei propri geni per i recettori via via che procede lo sviluppo. Un gene V per la catena pesante è riarrangiato in modo che la cellula possa produrre per prima la catena pesante del recettore. La catena migra alla superficie cellulare e la sua presenza in questa sede segnala al linfocita *B* di cessare di riarrangiare i geni per la catena pesante e di cominciare a riarrangiare quelli per la catena leggera. Sembra che sia una chinasi a trasmettere questo messaggio fondamentale dalla superficie all'interno della cellula.

Nell'agammaglobulinemia sono prodotte le catene pesanti, ma non quelle leggere. Si è scoperto di recente che in questi pazienti vi è una chinasi difettosa. (È interessante notare che l'assenza di una chinasi correlata che si trova nei linfociti *T* ha un identico effetto sullo sviluppo di questi ultimi.) A quanto pare, il difetto genetico descritto da mio padre 36 anni fa è stato finalmente identificato, e dovremmo presto comprendere in che modo eserciti i suoi effetti.

Nel frattempo, i tipi di infezione che colpiscono le persone affette da agammaglobulinemia ci hanno insegnato perché la produzione di anticorpi sia necessaria affinché l'organismo si mantenga in buona salute. Il trattamento di questi pazienti con immunoglobuline ottenute da donatori fornisce loro anticorpi e consente di condurre una vita quasi normale. Ma questa terapia è solo un palliativo per una malattia genetica che ora può, in teoria, essere eliminata inserendo il gene normale nelle cellule del midollo osseo del paziente. Un continuo, energico sostegno alla ricerca di base in immunologia, genetica, biologia cellulare, oncologia e biologia molecolare è necessario per debellare questa e altre più comuni malattie discusse in questo fascicolo.

BIBLIOGRAFIA

ATKINSON JOHN P. e FARRIES TIMOTHY, *Separation of Self from Non-Self in the Complement System* in «Immunology Today», 8, nn. 7-8, luglio-agosto 1987.

BJORKMAN PAMELA J. e altri, *Structure of the Human Class I Histocompatibility Antigen, HLA-A2* in «Nature», 329, n. 6139, 8-14 ottobre 1987.

LITMAN GARY W. e altri, *Phylogenetic Diversification of Immunoglobulin Genes and the Antibody Repertoire* in «Molecular Biology and Evolution», 10, pp. 60-72, gennaio 1993.

WEISS ARTHUR, *T Cell Antigen Receptor Signal Transduction: A Tale of Tails and Cytoplasmic Protein-Tyrosine Kinases* in «Cell», 73, n. 2, 23 aprile 1993.

Come il sistema immunitario riconosce il «sé»

Nell'uomo il sistema immunitario agisce mediante processi di grande raffinatezza che gli consentono normalmente di respingere invasioni dall'esterno senza attaccare al contempo l'organismo di appartenenza

di Philippa Marrack e John W. Kappler

Gli esseri viventi hanno a disposizione vari meccanismi per distinguere tra il «sé» e il «non sé». Per esempio, molte piante sono dotate di rivestimenti rigidi che non soltanto le proteggono da attacchi esterni, ma definiscono anche i loro confini. I lieviti possiedono particolari geni che codificano per proteine in grado di impedire l'accoppiamento tra cellule simili. Le spugne hanno un insieme di geni i cui prodotti possono essere utilizzati per individuare e respingere colonie estranee.

Il corpo umano ha prodotto uno dei meccanismi più elaborati per distinguere gli invasori da se stesso. Le cellule del sistema immunitario (linfociti e macrofagi, tra le altre) devono imparare a tollerare ogni tessuto, ogni cellula, ogni proteina del corpo a cui appartengono. Devono essere in grado di distinguere l'emoglobina del sangue dall'insulina del pancreas, dall'umor vitreo dell'occhio e da qualsiasi altra cosa. Devono inoltre riuscire a respingere gli innumerevoli invasori di differenti tipi, senza tuttavia attaccare l'organismo.

Gli immunologi hanno sempre cercato di capire come il corpo impari a tollerare se stesso, ma solo nell'ultimo decennio hanno scoperto i particolari del meccanismo che impedisce ai linfociti *T* e *B* di volgersi contro l'organismo di appartenenza. Molti linfociti immaturi hanno la capacità di reagire a prodotti del sé e pertanto rappresentano una minaccia. L'organismo cerca di liberarsi di tutte queste cellule ricorrendo a processi molto raffinati. Se una cellula immunitaria reagisce a un prodotto del sé (autoantigene) mentre si sta sviluppando nel timo o nel midollo osseo, è di solito uccisa o inattivata. Un linfocita maturo che reagisce a un prodotto del sé e non riceve un secondo messaggio chimico subirà in genere la stessa sorte. Queste strategie fondamentali che l'organismo utilizza per eliminare le cellule che reagiscono al sé (autoreattive) hanno molte varianti, in quanto vi sono molti differenti tipi di linfociti e di prodotti del sé.

Nonostante la protezione del sistema immunitario, alcuni linfociti che reagiscono con il sé possono non essere inattivati o uccisi e provocare parecchie malattie «autoimmuni». Gli immunologi sanno che, se riuscissero a comprendere tutti i meccanismi della tolleranza biologica, potrebbero riuscire a prevenire queste malattie. Una soluzione in questo senso sarebbe utile anche per impedire al sistema immunitario di rigettare gli organi trapiantati.

I linfociti *T* si sviluppano nel timo. Allorché uno di essi, prima di maturare completamente, reagisce a una proteina dell'organismo di appartenenza, viene ucciso. Questo meccanismo serve a eliminare molti linfociti *T* potenzialmente aggressivi nei confronti dell'organismo.

I vertebrati superiori possiedono molti meccanismi per individuare e uccidere i microrganismi estranei. Alcuni di questi sono relativamente aspecifici e dipendono dal fatto che alcuni gruppi di agenti infettivi sintetizzano composti chimici i quali non vengono prodotti in grande quantità dai vertebrati superiori. Per esempio, il sistema immunitario dei mammiferi riesce a scoprire la presenza di batteri invasori in quanto questi producono peptidi la cui catena ha inizio con un amminoacido insolito - la formilmetionina - che l'organismo sintetizza solo in piccole quantità. In effetti, nei mammiferi, elevate concentrazioni di peptidi contenenti formilmetionina attraggono un tipo di globuli bianchi, i neutrofili, che distruggono i batteri presenti. Allo stesso modo, è possibile individuare alcuni virus perché questi producono RNA a duplice filamento in quantità molto più elevata di quanto facciano i mammiferi. Grandi quantità di RNA a duplice filamento stimolano le cellule dei mammiferi a sintetizzare interferoni, proteine che a loro volta inducono una serie di reazioni in grado di accrescere la resistenza dell'organismo ospite a ulteriori infezioni virali.

Queste risposte non specifiche a sostanze prodotte da batteri e virus sono una parte importantissima del sistema immunitario, ma i vertebrati hanno anche bisogno di meccanismi che permettano loro di identificare invasori specifici. Il sistema immunitario deve essere in grado di riconoscere prodotti estranei solo leggermente diversi, sotto il profilo chimico, dalle proprie molecole.

Il sistema immunitario ha evoluto tre modi molto sofisticati per riconoscere le sostanze estranee (i cosiddetti antigeni). Alla base di questi meccanismi vi sono i tre tipi di recettori proteici che si trovano sui linfociti. Il primo meccanismo necessita di linfociti *B* i cui recettori proteici sono immunoglobuline; il secondo richiede linfociti *T* con un recettore proteico denominato alfa-beta; il terzo, infine, dipende da linfociti *T* il cui recettore proteico è chiamato gamma-delta.

Molti recettori sono posti alla superficie dei linfociti e, in date circostanze, si legano agli antigeni. Ciascuno consiste di due catene polipeptidiche differenti: le immunoglobuline sono fatte di catene leggere e catene pesanti; il recettore alfa-beta consta di una catena alfa e di una catena beta, mentre il recettore gamma-delta - come si può immaginare - possiede una catena gamma e una catena delta. La sequenza di amminoacidi di ciascuna catena può variare da cellula a cellula. Per esempio le catene alfa e beta di un qualsiasi linfocita *T* si differenziano quasi certamente da quelle di tutti gli

altri linfociti *T*. Pertanto i recettori di un qualsiasi linfocita *T* si legheranno probabilmente a un insieme diverso di sostanze rispetto a quelli degli altri linfociti *T*. Gli esseri umani dispongono di un numero elevatissimo (circa mille miliardi) di linfociti *T* e pertanto hanno molte differenti molecole alfa e beta per riconoscere sostanze estranee.

In verità, quando si considera il numero straordinariamente elevato dei recettori alfa-beta e gamma-delta dei linfociti *T* e delle immunoglobuline dei linfociti *B*, stupisce che nessun linfocita sia in grado di riconoscere le sostanze dell'organismo a cui appartiene. Questo fenomeno attrae da decenni l'interesse dei ricercatori, e sono state proposte molte teorie per spiegare come il sistema immunitario umano impari a tollerare le cellule dell'organismo cui appartiene.

Una delle prime ipotesi è stata semplicemente questa: gli animali non possono produrre linfociti i cui recettori reagiscano con il sé. In particolare, gli esseri umani potrebbero non avere i geni necessari per sintetizzare recettori alfa-beta in grado di reagire con le proteine umane. Da anni, tuttavia, si sa che questa spiegazione non è esatta. Oggi è noto che alcuni recettori, essendo la loro composizione e struttura determinate in maniera relativamente casuale, sono probabilmente in grado di legarsi alle sostanze dell'organismo che li ospita.

La casualità viene introdotta in almeno due modi. In primo luogo, i recettori dei linfociti vengono sintetizzati combinando a caso segmenti genici specializzati. Per esempio le catene alfa e beta dei linfociti *T* sono prodotte da un insieme casuale dei segmenti genici V-alfa, J-alfa, V-beta, D-beta e J-beta. In secondo luogo, brevi segmenti casuali di DNA vengono introdotti nei geni per il recettore alfa-beta durante il loro assemblaggio. Così, l'organismo non ha un controllo assoluto sulle sequenze amminoacidiche complete dei recettori.

Il controllo deve essere esercitato in un altro modo e in qualche altro stadio. Uno dei primi ricercatori a verificare quest'ipotesi è stato Ray D. Owen del California Institute of Technology. Nel 1945 Owen, studiando la trasmissione ereditaria dei tipi sanguigni nei bovini, osservò che vitelli gemelli biovulari, ma che avevano condiviso la placenta (monocoriali) tolleravano trasfusioni reciproche di sangue. Il fenomeno fu notato anche in un caso in cui i gemelli avevano padri diversi, il che permise a Owen di concludere che la tolleranza era una conseguenza dello scambio di linfociti e altre cellule ematiche all'interno dell'utero. Owen propose anche che questo scambio precoce impedisse a ciascuno dei gemelli di rigettare il sangue dell'altro. In seguito Sir Peter B. Medawar, Rupert E. Billingham e Leslie Brent del National Institute for Medical Research di Londra dimostrarono che se un topo neonato riceveva cellule ematiche da un topo adulto con il quale non aveva alcuna relazione di parentela, poteva accettare in seguito un trapianto di cute di quello stesso adulto. Pertanto l'introduzione di cellule ematiche al momento della nascita potrebbe influire sulla capacità del soggetto di accettare non solo il sangue, ma anche la cute dell'individuo a cui appartengono le cellule.

La cosa più importante è che questa ricerca e il lavoro di Owen hanno condotto alla stessa conclusione generale: il sistema immunitario non nasce con tutte le istruzioni per riconoscere le sostanze prodotte dall'organismo che lo ospita, ma apprende che cosa sia il sé a mano a mano che si sviluppa.

I linfociti *T* immaturi vengono uccisi quando i loro recettori si legano a peptidi, come viene illustrato da esperimenti con topi sottoposti a manipolazione genetica. Questi topi transgenici ospitano linfociti *T* i cui recettori possono riconoscere un peptide prodotto soltanto nei soggetti di sesso maschile. Nelle femmine i linfociti *T* si sono sviluppati normalmente; nei maschi invece essi sono assenti, evidentemente perché in una fase precoce dello sviluppo si sono legati al peptide e sono morti.

Una delle prime ipotesi che hanno permesso di spiegare in che modo il sistema immunitario impari a tollerare il sé venne proposta da Joshua Lederberg, che oggi lavora alla Rockefeller University. Nel 1959 egli ipotizzò che i linfociti immaturi non possano reagire agli antigeni allo stesso modo in cui reagiscono i linfociti maturi. Di solito, se una molecola si lega all'immunoglobulina di un linfocita *B* maturo, questo si modifica in una cellula che secerne anticorpi; se una molecola si attacca invece ai recettori di un linfocita *T* maturo, questo diventa o una cellula che secerne citochine o una cellula *killer* (citotossica). Lederberg suppose che, se un antigene si lega al recettore di un linfocita immaturo, questo muoia anziché attivarsi.

L'ipotesi di Lederberg, nota oggi come teoria della delezione clonale, indica un meccanismo per eliminare i linfociti che reagiscono con i prodotti del sé. Il processo si svolge nel modo seguente. I linfociti *T* e *B* vengono prodotti costantemente nel corso della vita dell'individuo, anche se dopo l'adolescenza la formazione di linfociti *T* può rallentare. Indipendentemente dal momento in cui compaiono, i linfociti *T* e *B* si svilupperanno sempre in un «mare» di sostanze sintetizzate dall'organismo in cui si trovano. Quei linfociti immaturi i cui recettori riconoscono i prodotti del sé, secondo la teoria di Lederberg, vengono distrutti; di conseguenza si svilupperanno fino a raggiungere la maturità soltanto i linfociti che non reagiscono con tali prodotti. Certamente i linfociti immaturi morirebbero anche se si legassero a un antigene estraneo; la risposta immunitaria si realizzerebbe allora a opera di quei linfociti che hanno raggiunto la maturità prima dell'infezione.

Poco tempo dopo che era stata proposta la teoria della delezione clonale, vennero avanzate altre due spiegazioni plausibili della tolleranza che il sistema immunitario mostra nei riguardi dell'organismo a cui appartiene. Secondo una delle due spiegazioni, un linfocita in via di sviluppo potrebbe venire inattivato in modo permanente, invece di morire, quando i suoi recettori sono impegnati in un legame. (Gli immunologi definiscono «anergico» un linfocita inattivo.) Secondo l'altra ipotesi, i linfociti *T* e *B* reattivi nei riguardi del sé potrebbero essere tenuti a bada da particolari linfociti, definiti repressori.

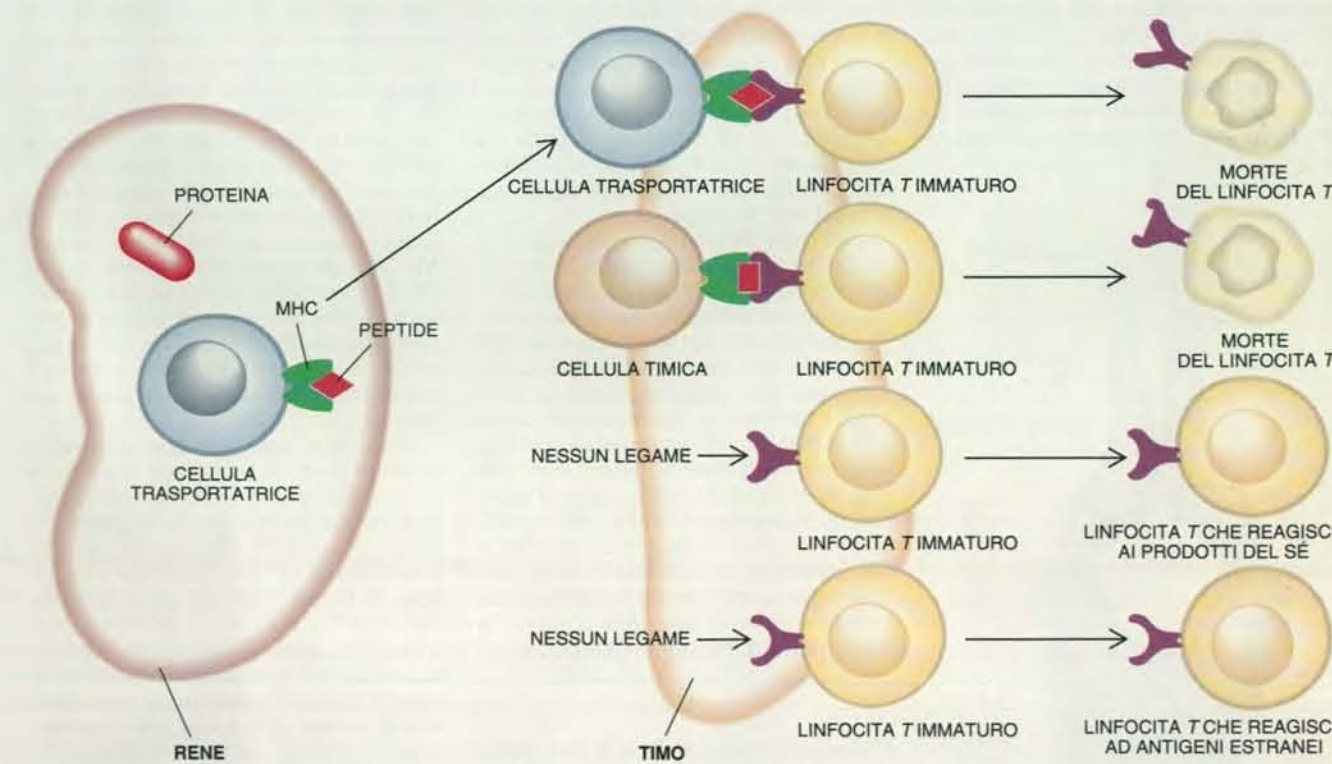
Da molti anni si sta cercando di distinguere fra queste tre ipotesi. È chiaro che i linfociti riconoscono con facilità un tessuto estraneo. Per esempio una persona rigetterà molto rapidamente trapianti di cute provenienti da un soggetto non legato da alcun vincolo di parentela, mentre accetterà un trapianto di cute prelevata da una parte del proprio organismo e trasportata in un'altra. Analogamente, i linfociti in coltura non saranno attivati da altre cellule provenienti dallo stesso organismo che li ha generati, mentre reagiranno violentemente a linfociti o altre cellule di un diverso individuo. Ma la questione più importante rimane: il sistema immunitario non reagisce ai prodotti del sé semplicemente perché non sono presenti linfociti che potrebbero reagire, oppure perché i linfociti ci sono, ma sono inattivi, o infine perché è in atto la loro repressione da parte di altre cellule?

Per risolvere il problema, si è tentato di ideare metodi per identificare quei linfociti che riconoscono particolari antigeni, ma che non rispondono necessariamente a essi proliferando. L'elaborazione di queste tecniche è risultata un compito arduo. Se in un animale i linfociti *T* e *B* non sono stati esposti a un antigene specifico, solo una piccola frazione di essi dovrebbe essere capace di reagire contro quell'antigene. La «frequenza» delle cellule che reagiscono è più o meno di una cellula su un milione; il valore è così basso che in effetti sarebbe impossibile distinguere i pochi linfociti in grado di riconoscere i prodotti del sé dai molti che non sono in grado di farlo.

Di recente, tuttavia, sono stati messi a punto due procedimenti sperimentali che permettono di superare l'ostacolo. Il primo necessita della presenza di un tipo peculiare di antigene, detto superantigene, mentre il secondo si basa sull'impiego di animali alterati geneticamente, i topi transgenici. Entrambe le tecniche devono essere descritte nei particolari.

Che sia un superantigene o un antigene a legarsi a un linfocita dipende, in ultima analisi, dalla composizione e dalla struttura del recettore. Per esempio, il recettore alfa-beta è un assemblaggio in certa misura casuale di segmenti quali V-alfa e V-beta. Esso è progettato principalmente per riconoscere peptidi estranei, cioè antigeni ottenuti per demolizione delle proteine degli organismi invasori. Il recettore, però, si lega solo a un peptide estraneo che si sia unito in precedenza a una delle proteine del maggior complesso di istocompatibilità (MHC), molecole specializzate che si trovano sulla superficie delle cellule ordinarie. Per quanto si può dire, tutti i segmenti variabili del recettore alfa-beta hanno un ruolo nel legame tra la proteina MHC e il peptide estraneo catturato. Per riconoscere un antigene specifico, il recettore di un linfocita *T* deve avere la combinazione esatta di segmenti variabili.

I superantigeni sono tutt'altra cosa. Come gli antigeni comuni, essi si attaccano a un tipo particolare di molecola MHC, ma poi si legano a uno specifico segmento V-beta di un recettore alfa-beta, senza quasi tener conto della restante struttura del recettore. Poiché il numero di tipi differenti di segmenti V-beta è piccolo in confronto al numero dei differenti recettori alfa-beta, vi sono molti più linfociti *T* in grado di riconoscere un particolare superantigene di quanti ve ne siano in grado di identificare un antigene specifico. Nei topi, per esempio, il numero di differenti segmenti V-beta è circa 20, sicché un particolare segmento V-beta è presente in circa uno su 20 linfociti *T* che abbiano recettori alfa-beta.

Il fatto importante è che, essendo così numerosi i linfociti *T* che reagiscono a uno specifico superantigene, la reazione può essere osservata. A questo scopo, si ottiene dapprima un anticorpo in grado di legarsi al bersaglio V-beta di un superantigene e lo si marca con una molecola fluorescente all'ultravioletto. L'anticorpo divenuto fluorescente si attac-

La morte precoce dei linfociti *T* che si legano a proteine del sé contribuisce a impedire che il sistema immunitario attacchi l'organismo che lo ospita. A mano a mano che si sviluppano nel timo, i linfociti *T* sono esposti alla maggior parte dei prodotti del sé. Alcune proteine vengono sintetizzate direttamente nel timo, mentre altre sono trasportate in quella sede a partire da organi come i reni. I giovani linfociti *T* i cui recettori si legano ai prodotti del sé muoiono. Dato però che alcuni autoantigeni non raggiungono mai il timo, una parte dei linfociti autoreattivi riesce ugualmente a raggiungere la maturità.

cherà ai linfociti *T* che reagiscono al superantigene, e questi potranno essere identificati al microscopio o mediante un apparecchio separatore.

Per verificare questa tecnica, è stato utilizzato in primo luogo un superantigene prodotto dal virus che provoca il carcinoma mammario del topo. I topi vengono infettati attraverso il latte materno. Il virus invade poi i linfociti e li stimola sintetizzando un superantigene. Come il virus che provoca l'AIDS, esso è un retrovirus e, pertanto, i suoi geni sono costituiti da RNA. Per riprodursi sintetizza copie di DNA da questo RNA e le inserisce nel DNA delle cellule infettate. Il DNA virale origina quindi RNA e proteine virali, che si assemblano a formare altri virus infettivi.

Occasionalmente i retrovirus infettano le cellule che daranno origine agli spermatozoi e alle cellule uovo. Quando ciò accade, il virus diventa parte del DNA della prole, cessando di essere un agente infettivo. Di fatto, quasi tutti i topi hanno uno o più virus del carcinoma mammario integrati nel loro DNA. Questi integranti virali generano proteine che sono, da ogni punto di vista, prodotti del sé. Le proteine virali vengono prodotte costantemente per tutta la vita dell'animale, proprio come avviene per le vere proteine del sé.

Assieme ai nostri colleghi del National Jewish Center for Immunology and Respiratory Medicine di Denver, abbiamo utilizzato i superantigeni sintetizzati da questi integranti virali per verificare in che modo il sistema immunitario reagisca ai prodotti del sé, dato che, per quel che riguarda il topo, le proteine codificate dall'integrante sono prodotti del sé. Nel 1988, con numerosi altri gruppi di ricerca, abbiamo cercato di esaminare gli effetti del superantigene prodotto da MTV-7, un ceppo di virus del carcinoma mammario integratosi naturalmente nel DNA di alcuni topi. Questo superantigene reagisce con certi segmenti V-beta presenti sui recettori dei linfociti *T* di topo. In particolare il superantigene si lega ai segmenti denominati V-beta 6, V-beta 7, V-beta 8.1 e V-beta 9.

In collaborazione con Uwe Staerz, che lavorava allora all'Istituto di immunologia di Basilea, abbiamo concentrato la nostra attenzione sugli effetti che il superantigene MTV-7 ha sul segmento V-beta 8.1 e abbiamo trovato che, nei topi il cui DNA non contiene MTV-7, fino all'8 per cento dei linfociti *T* ha quel segmento nei propri recettori. Per contro, nei topi il cui DNA include l'MTV-7 non sono mai presenti linfociti *T* maturi con il segmento V-beta 8.1. Nel medesimo periodo un gruppo svizzero - in cui lavoravano H. Robson MacDonald del Ludwig Institute for Cancer Research a Losanna e Rolf M. Zinkernagel e Hans Hengartner dell'Università di Zurigo - ha riferito che nei topi il cui DNA include l'MTV-7 sono assenti anche linfociti *T* contenenti il segmento V-beta 6. Più di recente, Edward Palmer e collaboratori del National Jewish Center hanno ottenuto risultati analoghi per il segmento V-beta 9, mentre noi abbiamo scoperto la stessa cosa per V-beta 7.

Tutti questi esperimenti hanno dimostrato che il superantigene prodotto dall'MTV-7 integrato causa in qualche modo la scomparsa dei linfociti *T* che possono reagire con esso. Così, in questo caso, i linfociti *T* capaci di riconoscere i prodotti del sé non sono né inattivati né soppressi da altre cellule; il fatto che semplicemente non ce ne siano significa che devono essere morti in qualche stadio del loro sviluppo.

Nel corso dello sviluppo animale, allo stadio fetale, i precursori dei linfociti *T* si formano nel sacco del tuorlo o nel fegato, mentre allo stadio giovanile o adulto sono prodotti nel midollo osseo. Migrano poi nel timo, dove cominciano a formare i geni che contengono le istruzioni necessarie a sintetizzare le catene alfa e beta e altre proteine associate ai recettori. Poco dopo, a mano a mano che i recettori alfa-beta cominciano ad apparire in piccole quantità alla loro superficie, i precursori si trasformano in timociti immaturi; quindi attraversano uno stadio di sviluppo ancora misterioso, che prende il nome di selezione positiva. In esso i timociti immaturi si arricchiscono di un numero crescente di recettori alfa-beta sulla loro superficie.

Tuttavia, se un timocita immaturo riconosce il superantigene prodotto dall'MTV-7 integrato, muore all'interno del timo. Molti differenti esperimenti effettuati su vari animali hanno ormai dimostrato che i superantigeni causano la morte dei timociti immaturi quando sono all'incirca a metà del loro sviluppo.

Un superantigene si lega a una parte soltanto del recettore di un linfocita *T*, nel caso illustrato alla regione V-beta. Prima di attaccarsi, esso deve comunque legarsi a una proteina del maggior complesso di istocompatibilità (MHC) presente sulla superficie di una cellula.

Questi risultati offrivano solide prove a favore della teoria della delezione clonale, ma bisognava considerare anche la possibilità che i superantigeni, che hanno tante proprietà speciali, non influiscano sui linfociti *T* al modo degli antigeni normali. Il gruppo di Harald von Boehmer e Michael Steinmetz dell'Università di Basilea e della Hoffmann-La Roche ha affrontato il problema dell'autotolleranza in modo del tutto diverso, usando topi transgenici. Questi sono ottenuti iniettando DNA codificante per un certo recettore in cellule uovo di topo fecondate. Questo DNA si incorpora nel DNA dell'embrione in via di sviluppo ed è trasmesso alla progenie.

Con questa tecnica von Boehmer e collaboratori hanno ottenuto topi in cui la maggior parte dei linfociti *T* aveva lo stesso recettore alfa-beta. Per capire come vi siano riusciti, bisogna sapere che in un topo normale un precursore di un linfocita *T* sintetizza nel suo sviluppo DNA che darà origine a un particolare recettore alfa-beta. Segmenti di DNA che codificano per questo recettore sono contenuti nel DNA di tutte le cellule del topo, ma solo nei linfociti *T* in via di sviluppo i segmenti sono riarrangiati in modo da costituire geni funzionali. Von Boehmer ha isolato DNA che codificava per uno specifico gene responsabile della sintesi del recettore alfa-beta, nel quale il riarrangiamento era già avvenuto, e lo ha inoculato in cellule uovo di topo. Via via che procedeva lo sviluppo, il DNA riarrangiato aveva la precedenza sui geni che non avevano ancora subito riarrangiamento. Pertanto nei topi transgenici la maggior parte dei linfociti *T* conteneva il recettore sintetizzato dai geni trattati.

Il recettore che von Boehmer aveva scelto di produrre è in grado di legarsi a un antigene presente solo nei topi di sesso maschile, purché questo sia associato alla proteina MHC D^b. In quei topi che producevano D^b von Boehmer e collaboratori hanno osservato, come previsto, che nelle femmine molti linfociti *T* portavano in superficie il recettore introdotto, mentre nei maschi i linfociti dotati di questo recettore erano quasi completamente assenti; essi erano stati apparentemente distrutti nel timo, in uno stadio precoce del loro sviluppo.

Questi dati mostrano che Lederberg aveva ragione quando propose la teoria della delezione clonale. I linfociti immaturi attraversano uno stadio in cui il legame di una molecola con il recettore provoca la morte della cellula. I linfociti autoreattivi vengono uccisi prima che abbiano la possibilità di proliferare e di danneggiare l'organismo in cui si trovano. Il sistema immunitario si serve in effetti della delezione clonale per stabilire la tolleranza verso il sé.

Sfortunatamente la teoria della delezione clonale non affronta il problema di come il sistema immunitario impari a tollerare gli autoantigeni che il timo o non produce affatto o produce in quantità estremamente piccole. Questo discorso vale non solo per proteine che sono relativamente isolate, come quelle prodotte nel cervello o nell'occhio, ma anche per quelle sintetizzate soltanto in certi tessuti specializzati.

Di fatto, molti di questi autoantigeni poco comuni vengono trasportati nel timo. Monociti e linfociti *B* possono catturare una proteina in una zona dell'organismo e trasportarla altrove, in particolare nel timo. Questo tipo di processo spiega bene come il sistema immunitario impari a tollerare molti prodotti del sé che non sono sintetizzati nel timo.

Tuttavia lo schema suddetto non si applica in tutti i casi; per esempio non spiega in che modo i linfociti *T* imparino a tollerare i peptidi che si legano alle proteine MHC di classe I. Queste molecole si legano soltanto a peptidi derivati da proteine prodotte all'interno della cellula stessa. I monociti e i linfociti *B* non sono in grado di trasportare i peptidi di altre cellule nel timo. Pertanto i linfociti *T* immaturi nel timo non sono esposti ad alcune proteine citoplasmatiche e non hanno alcuna possibilità di imparare a tollerarle. Deve essere quindi in atto qualche meccanismo che uccide, inattiva, o sopprime linfociti *T* maturi.

Il sistema immunitario dispone di un meccanismo di sicurezza che impedisce a un linfocita *T* maturo di attaccare i tessuti dell'organismo. Per attivarsi il linfocita *T* deve ricevere due segnali; il primo è il legame di un antigene al suo recettore, il secondo è tipicamente l'interazione con una proteina, per esempio B7 (*a sinistra*). Se un linfocita *T* è esposto a una proteina dell'organismo presentata su una cellula che non fornisce il secondo segnale, esso muore o diventa inattivo (*a destra*).

Molti scienziati si sono dati da fare per trovare un meccanismo grazie al quale i linfociti *T* maturi potessero apprendere la tolleranza. Parecchi esperimenti hanno ora dimostrato che, quando i linfociti *T* maturi si imbattono in prodotti del sé, o muoiono o si inattivano.

Uno di questi esperimenti è stato realizzato da Jacques F. A. P. Miller e collaboratori del Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research in Australia. Questi ricercatori hanno lavorato su un gene responsabile della sintesi di una proteina MHC di classe I, la K^b, introducendo il gene in un topo in modo tale che potesse essere sotto il controllo del gene per l'insulina. Pertanto il topo ha prodotto la proteina K^b solo in quelle cellule che sintetizzano normalmente insulina, vale a dire le cellule beta del pancreas. Dato che queste ultime sono stazionarie, la K^b non ha potuto essere trasportata nel timo dell'animale in questione e, non sorprendentemente, i timociti del topo hanno potuto legarsi a essa. I linfociti *T* maturi invece non reagivano, a meno che non si imbattessero nella proteina in circostanze molto particolari. Questi risultati hanno dimostrato che talvolta i linfociti *T* maturi che sono in grado di riconoscere autoantigeni possono sopravvivere, ma diventano anergici. Inoltre, in altri esperimenti, Susan Webb e collaboratori dello Scripps Research Institute di La Jolla, in California, hanno dimostrato invece che, in certe condizioni, i linfociti *T* maturi muoiono quando sono esposti ad autoantigeni.

Non si sa però esattamente che cosa causi la morte, anziché l'inattivazione dei linfociti *T* maturi. Forse i linfociti inattivi sono soltanto una tappa intermedia sulla via del decesso. In ogni caso, ciò che importa è che essi non possono reagire; anzi sono stati ormai scoperti tanti esempi di antigeni che provocano la morte o l'inattivazione dei linfociti *T*, che ci si può legittimamente chiedere quando e perché antigeni estranei attivino i linfociti *T*. Sembra che i linfociti *T* con recettori alfa-beta abbiano la caratteristica di non attivarsi solo perché i loro recettori sono occupati. Il problema è, dunque, di sapere in che modo un linfocita *T* maturo decide se dividersi, diventare inattivo o morire quando i suoi recettori reagiscono con una molecola.

La soluzione è venuta in parte da un esperimento realizzato una trentina di anni fa da David W. Dresser, che lavorava allora ai Medical Research Council Laboratories in Inghilterra. A quell'epoca si sapeva che il sistema immunitario reagisce con vigore a preparati di proteine estranee aggregate o mescolate con un adiuvante, per esempio batteri morti sospesi in olio minerale. Dresser, però, non osservò alcuna reazione a proteine estranee solubili; anzi, una volta che sia stato esposto a una proteina estranea so-

lubile, il sistema immunitario non reagirà più a qualunque preparato che la contenga. Esso impara a tollerare le proteine estranee solubili perché elimina i linfociti *T* che potrebbero reagire con esse, come è stato scoperto nel 1971 da Jacques M. Chiller e William O. Weigle della Scripps Clinic e da Roger Taylor degli MRC Laboratories.

Evidentemente i linfociti *T* sono in grado di riconoscere la forma dell'antigene, anche se fino a epoca recente non erano chiare le modalità. I recettori alfa-beta non hanno un mezzo diretto per scoprire in quale forma la proteina estranea è stata introdotta nell'organismo. Fino a quando un peptide è unito a una proteina MHC, può legarsi a un recettore alfa-beta indipendentemente dal fatto che la proteina da cui esso proviene sia in soluzione o in un adiuvante. Qualcosa di diverso dal recettore alfa-beta deve quindi fornire al linfocita *T* questa informazione sull'antigene.

Nel 1970 Peter A. Bretscher e Melvin Cohn del Salk Institute for Biological Studies hanno proposto una prima soluzione a questo problema, mentre cinque anni dopo Kevin J. Lafferty e Alistair J. Cunningham della John Curtin School of Medical Research in Australia hanno riformulato l'ipotesi nella forma attualmente accettata. In termini immunologici, i linfociti *T* necessitano di due segnali per essere stimolati da un antigene: il primo proviene dal legame dell'antigene con il recettore alfa-beta, mentre il secondo è dato da qualcos'altro.

Il compito di identificare questo secondo segnale ha assillato gli immunologi nell'ultimo decennio; un indizio è emerso dalla ricerca di Ronald H. Schwartz e collaboratori dei National Institutes of Health (si veda l'articolo *L'inattivazione dei linfociti* T di Ronald Schwartz in «Le Scienze» n. 302, ottobre 1993). Nel 1987 essi hanno dimostrato che antigeni legati alle proteine MHC non inducono i linfociti *T* coltivati *in vitro* a proliferare se le cellule che portano queste proteine MHC sono preparate in un certo modo. Non solo i linfociti *T* non hanno reagito, ma non sono stati neppure in grado di dividersi parecchi giorni dopo, se messi in presenza di antigeni legati a proteine MHC su cellule vive non trattate. Le cellule trattate contenenti le proteine MHC avevano in qualche modo inattivato i linfociti *T*.

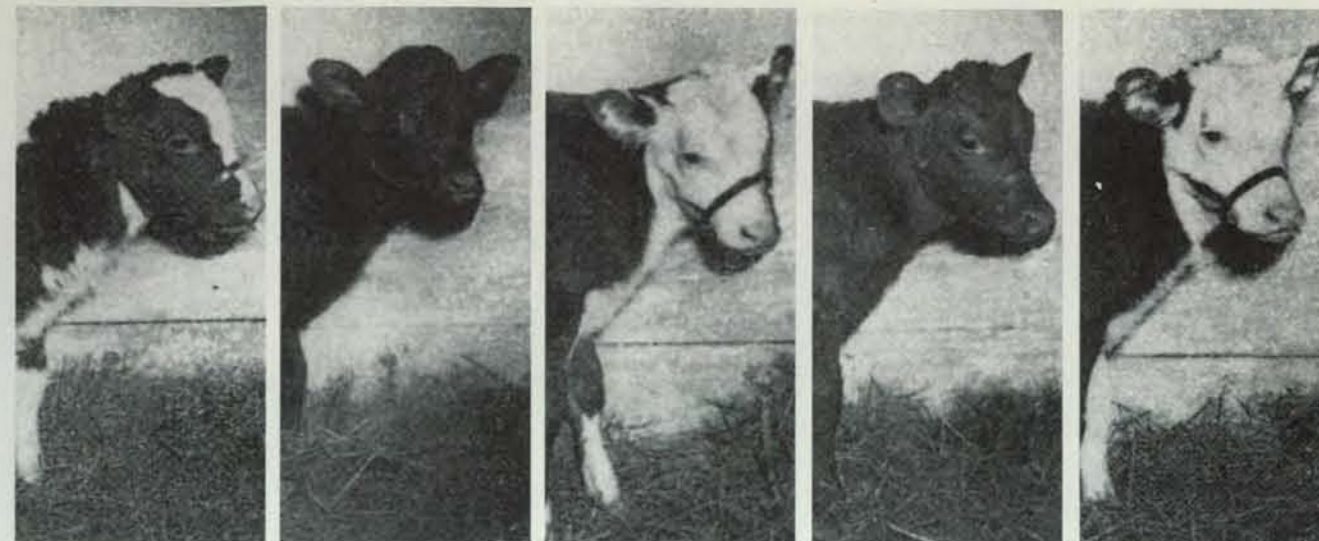
Successivamente si è dimostrato che il meccanismo di inattivazione coinvolge la CD28, una proteina presente sulla superficie dei linfociti *T*. Quando la CD28 si lega a un'altra proteina (B7 o BB1) sulla superficie dei linfociti *B* o dei macrofagi, invia un segnale al linfocita *T*. Di norma un linfocita *T* si lega simultaneamente a un complesso antigene-proteina MHC e a una molecola B7 e riceve due segnali: l'uno tramite il proprio recettore e l'altro tramite la CD28. Se invece il linfocita si imbatte in un antigene presente su una cellula che non ha molecole funzionali di B7, riceve soltanto il segnale dal recettore e non quello dalla CD28 e si inattiva. Questo risultato conferma la teoria secondo la quale i linfociti *T* necessiterebbero di due segnali per reagire a un antigene (vale la pena di rilevare, però, che quello emesso dalle proteine CD28 e B7 è solo uno dei molti possibili segnali secondari).

Naturalmente, il modo in cui il segnale CD28-B7 viene bloccato in laboratorio non è ciò che accade nell'organismo. Ci si chiede quali cellule possano presentare antigeni legati a proteine MHC senza tuttavia emettere il segnale CD28-B7. Si potrebbe trattare dei linfociti *B*, come hanno proposto ricercatori quali David C. Parker dell'Università del Massachusetts a Worcester e Polly C. Matzinger del National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Negli animali la maggior parte dei linfociti *B* non contiene quasi B7; solo dopo che gli stessi linfociti *B* sono stati stimolati la loro produzione di B7 aumenta fino a quantità misurabili. Pertanto, se i linfociti *T* si imbattono nell'antigene presente sui linfociti *B*, possono venire inattivati perché ricevono solo il primo segnale. Questa teoria è senz'altro plausibile, ma non è stata ancora verificata. Con tutta probabilità, solo certe cellule specializzate (macrofagi, cellule dendritiche e forse linfociti *B* attivati) possono fornire entrambi i segnali necessari per l'attivazione dei linfociti *T*.

I linfociti *B* immaturi diventano inattivi quando si legano a una molecola, come dimostrano esperimenti effettuati con topi transgenici. Si sono fatti accoppiare topi manipolati geneticamente in modo da produrre lisozima di uovo di pollo (LUP) con altri topi che sintetizzano linfociti *B* dotati di recettori che si legano al LUP. La progenie produceva sia LUP sia linfociti *B* che reagivano a esso. In questi animali i linfociti *B* non erano attivati da reagenti che normalmente stimolano queste cellule.

L'organismo ha molti strumenti per far fronte a un linfocita *T* con recettori alfa-beta che reagisce con i prodotti del sé. Se il linfocita si sta ancora sviluppando nel timo e il suo recettore si lega a un prodotto del sé, esso muore. D'altra parte, un linfocita maturo il cui recettore si lega a un autoantigene viene inattivato o ucciso se non riceve un secondo messaggio, per esempio il segnale che gli giunge tramite le molecole CD28 e B7. Non è altrettanto chiaro il modo in cui i linfociti *B* e i linfociti *T* con recettori gamma-delta reagiscono ai prodotti del sé.

Sembra che il sistema immunitario si occupi dei linfociti *B* che reagiscono con il sé e delle loro immunoglobuline più o meno allo stesso modo in cui si prende cura dei linfociti *T* con recettori alfa-beta che reagiscono con il sé. Nel 1976 il gruppo di Norman R. Klinman all'Università della Pennsylvania e quello di Ellen Vitetta del Southwestern Medical Center dell'Università del Texas a Dallas hanno dimostrato indipendentemente che i linfociti *B* immaturi in coltura possono essere resi tolleranti nei riguardi dell'antigene con maggiore facilità che non i linfociti *B* maturi. Successivamente Sir Gustav J. V. Nossal e collaboratori dello Hall Institute hanno dimostrato che questo fenomeno può comportare sia l'anergia sia la morte dei linfociti *B*.

Di recente è stato possibile dimostrare

Questi vitelli nati da un parto pentagemellare indicano che il sistema immunitario impara a tollerare i prodotti del sé. Nell'utero i feti avevano la placenta e la circolazione materna in comune sicché ogni vitello poteva ricevere sangue dai gemelli.

questo fenomeno *in vivo*, utilizzando topi transgenici. Nell'esperimento cellule uovo fecondate di topo sono state inoculate con geni maturi, totalmente riarrangiati, responsabili della sintesi di una particolare immunoglobulina. Questi geni sono stati così introdotti nel DNA dei topi. Via via che in questi animali, nel corso dello sviluppo, maturavano i linfociti *B*, i geni introdotti facevano sì che questi recassero quasi tutti in superficie l'immunoglobulina specifica.

Tra i primi a provare questa tecnica vi furono Christopher C. Goodnow e collaboratori dell'Università di Sydney. Essi hanno prodotto due gruppi di topi transgenici: uno possedeva i geni per una immunoglobulina che si lega a una proteina estranea, e precisamente al lisozima dell'uovo di pollo; l'altro conteneva un gene che istruisce le cellule a produrre lisozima di uovo di pollo. Accoppiando i topi di un gruppo con quelli dell'altro, si otteneva una progenie il cui DNA conteneva entrambi i tipi di gene. Pertanto questi topi avevano la capacità di produrre sia il lisozima dell'uovo di pollo sia l'immunoglobulina che si lega a esso. Goodnow e collaboratori hanno trovato che i linfociti *B* presenti nella progenie erano inattivati, confermando così i risultati ottenuti *in vitro*.

Un esperimento analogo è stato realizzato da David Nemazee, che si trovava allora all'Istituto di immunologia di Basilea, e da Kurt Buerki della Sandoz Pharma. Essi hanno ottenuto topi transgenici dotati di un gene per un'immunoglobulina che si lega alla proteina MHC D^b. In alcuni topi transgenici, che producono naturalmente la D^b nel midollo osseo, i linfociti *B* morivano.

Perché i linfociti *B* immaturi talvolta sono inattivati e talvolta muoiono in seguito al contatto con l'autoantigene? Si è scoperto che è la forma dell'antigene a determinare il destino delle cellule. Gli antigeni solubili, come il lisozima dell'uovo di pollo, hanno maggiori probabilità di inattivare i linfociti *B* immaturi che si legano a essi. Al contrario, gli antigeni aggregati legati alle cellule, come la D^b, hanno maggiori probabilità di uccidere i linfociti *B* immaturi.

Nel complesso i meccanismi di tolleranza per i linfociti *B* sono molto simili a quelli per i linfociti *T* con recettori alfa-beta. I linfociti *B* maturi muoiono o sono inattivati quando i loro recettori si impegnano in un legame. Rimane da determinare se la tolleranza possa essere imposta ai linfociti *B* maturi, così come accade per i linfociti *T* maturi.

Contrariamente ai linfociti *B*, i linfociti *T* con recettori gamma-delta sono un mistero. Nell'uomo e nel topo il numero di questi linfociti è circa pari a quello dei linfociti *B* o dei linfociti *T* con recettori alfa-beta; si tratta chiaramente di molecole molto importanti, ma il quadro del loro contributo al sistema immunitario è ancora incompleto. Sembra che essi reagiscano ai prodotti sintetizzati dall'ospite quando, per esempio, un tessuto subisce un'abrasione oppure viene esposto a calore eccessivo, a metalli dannosi, o all'attacco di organismi invasori. I recettori dei linfociti gamma-delta sembrano essere particolarmente adatti a legarsi a certe componenti del sé. Se ciò è vero, va allora affrontato il problema di come questi linfociti che reagiscono con il sé siano tenuti sotto controllo; per il momento, non se ne ha alcuna idea.

Un sistema immunitario sano non attacca l'organismo in cui si trova. Sfortunatamente il sistema può compiere degli errori e compaiono allora linfociti *T* e *B* in grado di reagire agli autoantigeni. Questi linfociti provocano danno all'organismo che li ospita, determinando malattie come l'artrite reumatoide, la sclerosi multipla e il lupus eritematoso.

Al momento queste malattie vengono trattate scatenando una battaglia campale contro le cellule del sistema immunitario che le provocano. Per mantenere sotto controllo la risposta autoimmune vengono utilizzati potenti farmaci antinfiammatori e sostanze che uccidono o rallentano i linfociti *T* e *B* attivati. Purtroppo questi metodi non sono sempre efficaci e, in alcuni casi, hanno effetti collaterali indesiderati. È sperabile che, continuando a studiare in che modo il sistema immunitario apprenda la tolleranza nei riguardi dell'organismo, si trovino modi per migliorare il trattamento delle malattie autoimmuni.

BIBLIOGRAFIA

BILLINGHAM R. E., BRENT L. e MEDAWAR P. B., *Actively Acquired Tolerance of Foreign Cells* in «Nature», 172, n. 4379, 3 ottobre 1953.

KAPPLER J. W., ROEHM N. e MARRACK P., *T Cell Tolerance by Clonal Elimination in the Thymus* in «Cell», 49, n. 2, 24 aprile 1987.

SCHWARTZ R. H., *A Cell Culture Model for T Lymphocyte Clonal Anergy* in «Science», 248, pp. 1349-1356, 15 giugno 1990.

GOODNOW C. C., ADELSTEIN S. e BASTEN A., *The Need for Central and Peripheral Tolerance in the B Cell Repertoire* in «Science», 248, pp. 1373-1379, 15 giugno 1990.

OHASHI P. S. e altri, *Ablation of «Tolerance» and Induction of Diabetes by Virus Infection in Viral Antigen Transgenic Mice* in «Cell», 645, n. 2, 19 aprile 1991.

Il sistema immunitario e le malattie infettive

Quando virus, batteri e altri agenti patogeni infettano l'organismo, si nascondono in tessuti e apparati diversi, ma vengono snidati in maniera altamente specifica dalle svariate componenti del sistema immunitario

di William E. Paul

Le malattie infettive rappresentano da sempre la principale causa di mortalità a livello mondiale. La malaria, la tubercolosi, la diarrea su base infettiva e molte altre malattie causano tuttora innumerevoli sofferenze e morti, specialmente nei paesi in via di sviluppo. Per un certo tempo si è pensato che le malattie infettive stessero per cadere sotto il controllo dell'uomo, almeno nei paesi industrializzati. Tuttavia la comparsa dell'AIDS e il riapparire della tubercolosi, con nuovi ceppi resistenti alle comuni terapie, dimostrano chiaramente che resta molta strada da fare prima di riuscire a sconfiggere definitivamente questi eterni nemici dell'uomo.

Nonostante quest'amara realtà, la capacità del sistema immunitario di tener testa alle infezioni è notevole, specialmente quando è potenziata dalle moderne strategie di vaccinazione. In seguito a un programma globale coordinato di vaccinazione, il vaiolo è stato completamente sradicato: l'ultimo caso, in Somalia, risale al 1977. Analogamente si spera di eliminare la poliomielite. L'Organizzazione mondiale della sanità si è prefissa di far sparire completamente la poliomielite dalla faccia della Terra entro il 2000: nei paesi sviluppati essa è già stata eliminata. Questi successi sottolineano la necessità di sfruttare nel modo più efficace i vaccini di cui disponiamo e di svilupparne di nuovi contro quelle malattie che rappresentano tuttora un vasto problema di sanità pubblica.

La malaria, come altre malattie infettive, rappresenta ancor oggi un tremendo flagello, soprattutto nei paesi in via di sviluppo. Nella fotografia, una donna assiste una ragazza colpita da malaria cerebrale al confine tra Thailandia e Cambogia. Quando batteri, parassiti e virus colonizzano varie regioni dell'organismo, si avvalgono di tutta una serie di stratagemmi per ingannare il sistema immunitario. Quest'ultimo, da parte sua, ha sviluppato alcune contromisure.

Forse la chiave dei futuri successi sta in una più approfondita valutazione dei meccanismi attraverso i quali il sistema immunitario risponde agli agenti infettanti. Le difese immunitarie possedute dall'uomo e da altre specie hanno raggiunto l'attuale grado di sofisticazione evolvendosi attraverso la continua lotta con microrganismi molto diversi tra loro e in grado di mutare rapidamente. Tale lotta viene ripetuta in ogni individuo: il sistema immunitario di una persona si confronta con innumerevoli invasori nel corso della vita, e un'infezione letale rappresenta spesso il risultato di un'unica sconfitta in una guerra altrimenti sempre vittoriosa.

La risposta immunitaria di un individuo è in grado di adattarsi alle aggressioni che quella persona dovrà affrontare in quanto i suoi meccanismi, così come i suoi nemici, sono molteplici e specifici. I linfociti possono individuare l'invasore perché sono dotati di specifici recettori di superficie; i geni per quei recettori possono essere riarrangiati e modificati per produrre strutture che si adattano virtualmente a ogni sostanza estranea. Inoltre i diversi tipi cellulari che compongono il sistema immunitario hanno funzioni specializzate. Queste ultime consentono ai vertebrati di riconoscere ed eliminare (o almeno controllare) microrganismi che si stabiliscono in diverse sedi all'interno dell'organismo. La complessità della risposta immunitaria, che conferisce al sistema estrema flessibilità e potenza, pone problemi talora scoraggianti per coloro che si apprestano a decifrarla.

Tenendo presente tale premessa, è istruttivo descrivere le nostre attuali conoscenze sulla risposta immunitaria nei confronti dei vari tipi d'infezione. In senso lato, ciascun elemento del sistema immunitario appare diretto contro agenti che infettano una data nicchia del corpo umano. Gli anticorpi, per esempio, sono proteine specializzate nel distruggere batteri che vivono al di fuori delle cellule dei tessuti umani, per esempio nel sangue e nei fluidi del polmone. Una determinata classe di globuli bianchi, i linfociti *T* CD4, è d'importanza centrale nel combattere batteri e altri parassiti intracellulari, specialmente all'interno degli organelli che sono la loro via d'ingresso nella cellula. Altri globuli bianchi, i linfociti *T* CD8, tengono a bada i virus, agenti patogeni che si associano ancor più intimamente all'insieme di organelli e strutture che fanno funzionare le cellule dell'ospite.

Naturalmente questa visione del sistema immunitario è molto semplificata; una risposta difensiva efficace coinvolge tutte le componenti del sistema immunitario in maniera coordinata. In pratica, ogni componente può essere coinvolta, direttamente o indirettamente, nel respingere quasi ogni tipo d'infezione. Le cellule *T* CD4, per esempio, sono chiamate spesso cellule *T helper*, perché aiutano, secernendo particolari sostanze, ad amplificare e controllare virtualmente ogni aspetto della risposta immunitaria. Tuttavia questo schema semplificato consente di entrare in maniera organica nel dettaglio delle risposte principali del sistema immunitario impegnato nella battaglia contro i patogeni.

Prendiamo, per esempio, in considerazione l'infezione che causa la polmonite pneumococcica per mettere in luce il ruolo protettivo svolto dagli anticorpi. Quando il batterio *Streptococcus pneumoniae* (o pneumococco) penetra nei polmoni, colonizza gli spazi alveolari, le

Gli pneumococchi sono batteri che provocano infezioni potenzialmente letali insediandosi all'interno dei polmoni. Senza l'aiuto di anticorpi e proteine del complemento, i macrofagi non riescono a distruggere gli pneumococchi, che sono dotati di una capsula le cui complesse strutture saccaridiche impediscono l'adesione delle cellule fagocitarie.

microscopiche sacche nelle quali avviene il trasferimento dell'ossigeno atmosferico nel sangue e la contemporanea rimozione dell'anidride carbonica. Lo pneumococco si replica in quella sede, causando danno tissutale e infiammazione che rendono difficoltoso il respiro. Se l'infezione batterica non viene controllata, si possono avere gravi complicazioni e, in un'alta percentuale di casi, la morte del paziente.

Vivendo al di fuori delle cellule e nel torrente circolatorio, questi batteri potrebbero sembrare una facile preda per i macrofagi, i neutrofili e le altre cellule immunitarie che fagocitano batteri e detriti presenti nell'organismo. *S. pneumoniae* sfugge a questo sistema di controllo perché è circondato da una «capsula» formata da molecole zuccherine complesse, i polisaccaridi. I fagociti non possono legarsi ai polisaccaridi e pertanto non riescono a difendere l'organismo della polmonite pneumococcica.

I polisaccaridi della capsula batterica rappresentano un bersaglio più idoneo per i linfociti *B*, le cellule che producono gli anticorpi. La membrana di superficie dei linfociti *B* è rivestita di recettori per taluni determinanti di sostanze estranee, gli antigeni. Ciascun linfocita *B* ha recettori per un solo tipo di determinante antigenico, ma poiché l'organismo produce miliardi di cellule *B*, la maggior parte delle quali ha specificità diversa a causa dei differenti anticorpi che si possono trovare sulla loro superficie, ci sono buone possibilità che almeno alcune cellule *B* portino recettori che si legano ad antigeni presentati da un microrganismo invasore.

Senza dubbio, quindi, vi sono alcune cellule *B* che hanno recettori per i determinanti antigenici della capsula polisaccaridica di *S. pneumoniae*. Poiché la struttura molecolare dei polisaccaridi è di tipo ripetitivo, gli stessi antigeni capsulari appaiono più volte, e molti recettori presenti su una data cellula *B* possono migrare l'uno in prossimità dell'altro sulla superficie cellulare attaccandosi alla stessa capsula. Tale aggregazione dei recettori è indispensabile per l'attivazione dei linfociti *B* in risposta ad antigeni polisaccaridici e scatena una potente reazione immunitaria da parte di queste cellule.

Una volta che una cellula *B* è stata attivata in questa maniera, avvengono al suo interno rapidi eventi di tipo biochimico. L'enzima tirosinchinasi catalizza modificazioni nelle molecole segnale presenti all'interno della cellula, per esempio nelle proteine associate ai recettori di membrana. Questa cascata di reazioni finisce col mettere le cellule *B* in condizione di dividersi e secernere anticorpi contro la capsula polisaccaridica (taluni segnali chimici, o citochine, forniti dalle cellule *T* helper sembrano anch'essi essenziali alla piena mobilitazione della risposta delle cellule *B*).

Gli anticorpi rilasciati da un linfocita *B* attivato possono legarsi alla capsula che circonda gli pneumococchi e favorirne l'ingestione da parte dei fagociti. Il conseguimento di questo risultato dipende in particolare dalla struttura e dalle caratteristiche chimiche delle molecole anticorpali. Gli anticorpi che appartengono alla classe delle immunoglobuline G (IgG) hanno una regione molecolare chiamata Fc-gamma. I macrofagi e altre cellule fagocitarie hanno recettori che si legano specificamente alla regione Fc-gamma e che segnalano al macrofago d'ingerire le particelle «attaccate» alla loro superficie. Questi anticorpi forniscono pertanto ai fagociti gli «appigli» di cui hanno bisogno per attaccare gli pneumococchi e porre fine all'infezione.

Gli anticorpi legati ai polisaccaridi possono anche rendere più vulnerabili gli pneumococchi attivando una cascata di enzimi circolanti, noti come sistema complemento. Il frammento C3 di uno di questi enzimi può legarsi saldamente alla superficie batterica. Recettori posti sui fagociti possono allora riconoscere i frammenti C3, in analogia con quanto accade ai recettori per il frammento Fc-gamma che si legano agli anticorpi immunoglobulinici. Ciò provoca un aumento della fagocitosi nei riguardi dello pneumococco. Poiché il legame di un singolo anticorpo alla capsula dello pneumococco può innescare la cascata del sistema complemento, gli anticorpi fungono da potenti segnali di amplificazione nell'indurre la fagocitosi. Inoltre si è recentemente dimostrato che la presenza di frammenti del complemento su un antigene accresce notevolmente l'efficienza con cui le cellule *B* possono essere stimolate da quell'antigene; in altre parole, il sistema complemento incrementa anche la produzione di anticorpi. A causa della retroazione positiva di questo sistema di interazioni, la linea di difesa offerta dagli anticorpi risulta straordinariamente rapida ed efficiente.

La risposta anticorpale è per molti aspetti la più semplice nel repertorio del sistema immunitario. È una gara tra produzione di anticorpi e replicazione di agenti patogeni, nella quale chi è più lento muore. Questa risposta è adatta a combattere l'infezione da pneumococco e da batteri extracellulari in generale; i linfociti *B* e gli anticorpi sono specializzati nel bloccare questi invasori. La resistenza alle infezioni che si sviluppa in individui vaccinati o precedentemente esposti a un agente infettivo dipende innanzitutto dalla risposta anticorpale.

Molti microrganismi, tuttavia, riescono a insediarsi all'interno della cellula, dove anticorpi e complemento non possono raggiungerli. Gli anticorpi hanno la possibilità di incontrare questo tipo di invasore solo quando esso è in cammino verso la sua destinazione intracellulare, ma la loro risposta può non essere abbastanza pronta o vigorosa per prevenirne l'ingresso nella cellula, soprattutto se l'ospite non è mai stato a contatto con quel microrganismo. La situazione richiede una diversa strategia difensiva, adatta a riconoscere un attacco subdolo.

Si possono individuare due tipi di infezioni intracellulari. In una modalità d'infezione, i microrganismi sono insediati all'interno di organelli ancorati alla membrana cellulare (endosomi e lisosomi), attraverso i quali entrano nella cellula. Questo comportamento è tipico dei batteri che causano tubercolosi e lebbra. Nell'altra modalità d'infezione il microrganismo ha accesso alla parte fluida, non strutturata in organelli della cellula (il citosol) e al nucleo. I virus sono i più comuni microrganismi che utilizzano questa via d'invasione. I linfociti *T* forniscono la principale difesa contro entrambe queste forme d'infezione, sebbene i modi in cui controllano l'una e l'altra forma siano molto diversi tra loro.

Per comprendere come le cellule *T* combattono le infezioni intracellulari possiamo vedere quello che accade nel caso del protozoo *Leishmania*. Le leishmaniosi viscerale e cutanea sono malattie gravi e diffuse nei paesi in via di sviluppo. Il kala-azar o leishmaniosi viscerale si manifesta con ingrossamento della milza e del fegato, leucopenia (diminuzione dei globuli bianchi), inappetenza e perdita di peso. Se non trattata, la malattia può essere fatale. Il bottone d'oriente o leishmaniosi cutanea è caratterizzato da lesioni ulcerative della pelle che generalmente guariscono, sebbene il processo possa richiedere anche più di un anno. In alcuni casi le lesioni si diffondono alla mucosa nasale e faringea, con esiti sfiguranti.

Il bersaglio principale di *Leishmania* è il macrofago. Durante la loro abituale attività di pulizia nel torrente circolatorio, i macrofagi fagocitano tutti i protozoi che riescono a intercettare e li segregano in vacuoli. Questi ultimi si fondono con altri vacuoli contenenti enzimi proteolitici, che degradando le proteine distruggono la maggior parte dei microrganismi. *Leishmania* può, tuttavia, mutare in una nuova forma che non solo resiste all'attacco proteolitico, ma può addirittura trarre vantaggio da esso. Il parassita si moltiplica così entro il vacuolo fino a quando il macrofago infettato non ce la fa più e muore.

Come il sistema immunitario attacca gli pneumococchi

PNEUMOCOCCHI

IMMUNOGLOBULINA DI MEMBRANA

LINFOCITA *B*

1 Attraverso il loro recettore (immunoglobulina di membrana) alcuni linfociti *B* possono legarsi ai polisaccaridi della capsula batterica e attivarsi.

LINFOCITA *B* ATTIVATO

2 I linfociti *B* attivati si dividono in cellule figlie che secernono anticorpi specifici per i carboidrati della capsula batterica.

LINFOCITA *B* ATTIVATO

3 Alcuni anticorpi attivano il sistema degli enzimi del complemento. Un frammento della componente C3 può legarsi a recettori specifici sui macrofagi, con conseguente fagocitosi degli pneumococchi.

PROTEINE DEL COMPLEMENTO

C3

MACROFAGO

REGIONE Fc-GAMMA

RECETTORE PER LA REGIONE Fc-GAMMA

4 Gli anticorpi di isotipo IgG hanno una regione chiamata Fc-gamma. Usando il recettore per Fc-gamma, i macrofagi si legano agli anticorpi IgG della capsula e fagocitano i batteri.

MACROFAGO

***Leishmania* e molti altri parassiti proliferano all'interno degli organelli cellulari, dove sono al riparo dall'azione difensiva degli anticorpi. I macrofagi fagocitano i parassiti e li sequestrano in organelli detti endosomi. Molti microrganismi intrappolati negli endosomi sono in seguito distrutti da enzimi lisosomali. *Leishmania* riesce però a sopravvivere e a moltiplicarsi negli endosomi.**

Fortunatamente, l'organismo ha uno strumento per eliminare i parassiti intracellulari sequestrati in questa maniera. I vertebrati posseggono molecole che si legano ai peptidi prodotti all'interno della cellula e li trasferiscono sulla superficie cellulare, dove possono essere riconosciuti dal sistema immunitario. Queste molecole costituiscono quello che un po' impropriamente è chiamato maggior complesso di istocompatibilità (MHC) e posseggono nella loro struttura una sorta di tasca molecolare che può legare una serie di peptidi dotati della capacità di essere riconosciuti dal sistema immunitario. Vi sono due classi di molecole MHC: nel caso delle infezioni da *Leishmania* nei macrofagi, sono le molecole MHC di classe II a riconoscere i peptidi dei microrganismi.

Queste molecole sono trasportate all'interno dei vacuoli contenenti i parassiti e altri antigeni extracellulari fagocitati dal macrofago. Le molecole MHC si associano ai peptidi perduti da *Leishmania* o asportati dagli enzimi proteolitici. Non tutti i peptidi presenti possono associarsi alle molecole MHC di classe II; tuttavia, per un sistema antigenico complesso come quello costituito da *Leishmania*, ve ne sono parecchi adatti. Questi complessi peptide-molecola MHC di classe II si sposteranno infine sulla membrana plasmatica.

Una volta esposti in superficie, i complessi possono segnalare ai linfociti *T* CD4 la presenza dell'infezione. Questi linfociti hanno sulla membrana un recettore specifico per una data combinazione tra peptide e molecola MHC. Tutti i recettori presenti su una stessa cellula *T* sono identici, così come avviene per le cellule *B*, ma l'estrema diversità del repertorio di recettori prodotti dalla popolazione cellulare *T* CD4 garantisce che per qualunque combinazione peptide-MHC sia disponibile un recettore. Pertanto, con la collaborazione delle molecole MHC, i linfociti *T* possono riconoscere le cellule infettate dai microrganismi che si nascondono al loro interno.

Questo evento iniziale di riconoscimento specifico evolve in una risposta immunologica solo quando il macrofago fornisce contestualmente un segnale addizionale alla cellula *T*. Una molecola di membrana che può avere questa funzione accessoria è B7, espressa da macrofagi e analoghi tipi cellulari a seguito di un'infezione. Questa molecola è riconosciuta da una proteina distinta posta sulla membrana delle cellule *T*, il recettore CD28. Le intricate interazioni tra complesso MHC-peptide e recettore della cellula *T* e tra B7 e CD28 sono necessarie per produrre un'efficiente attivazione del linfocita *T* CD4.

In effetti, in assenza del segnale accessorio portato da B7, la cellula *T* CD4 può diventare anergica, ossia inattivata, a seguito della sua interazione con il peptide antigenico. L'induzione dell'espressione di B7 su macrofagi che presentano antigeni estranei sembra molto importante nel produrre una risposta protettiva da parte dei linfociti *T* CD4 nei confronti dei patogeni intracellulari.

Quando una cellula *T* CD4 riceve il duplice segnale, libera citochine che aumentano la capacità del macrofago di distruggere il nemico al suo interno. Particolarmente importante tra queste citochine è l'interferone gamma, che stimola il macrofago a produrre altre citochine, tra cui il TNF (fattore di necrosi tumorale), e sostanze chimiche come ossido di azoto e forme tossiche dell'ossigeno, che portano alla distruzione del microrganismo.

Alcuni studi hanno rivelato, tuttavia, che il tipo di risposta delle cellule *T* CD4 può variare, alterando conseguentemente l'efficacia della reazione difensiva. Gran parte del lavoro di dettaglio su *Leishmania* è stato condotto nel topo, che è sensibile al ceppo *L. major*. Nella maggior parte dei topi l'infezione con *L. major* è transitoria in quanto il sistema immunitario dell'animale riesce a sconfiggerla: le cellule *T* CD4, quando sono attivate da antigeni di *Leishmania*, producono interferone gamma. Tuttavia alcuni ceppi di topi geneticamente identici, quali BALB/c, non possono controllare la leishmaniosi e sviluppano lesioni che li portano alla morte. La ragione di un tale fallimento sembra risiedere nel fatto che le loro cellule *T* CD4 secernono le interleuchine IL-4 e IL-10, e non interferone gamma. La combinazione di queste due interleuchine ha un potente effetto inibitorio sull'azione distruttiva attuata contro i microrganismi dall'interferone gamma.

Per il decorso della malattia è chiaramente cruciale la «scelta» di produrre l'una o l'altra citochina. Successive ricerche hanno rivelato in dettaglio il meccanismo con il quale tale scelta viene operata. In generale, quando sono esposte a peptidi antigenici presentati da macrofagi o da altre cellule presentanti, le cellule *T* in coltura vengono stimolate a secernere notevoli quantità di interferone gamma e di interleuchina 2 - una citochina che promuove la proliferazione dei linfociti *T* - ma non a produrre interleuchina 4. Ciononostante, se nel terreno di coltura è presente interleuchina 4, le cellule *T* possono produrne una ulteriore quantità, in sostituzione dell'interferone gamma, quando incontrano l'antigene per cui sono specifiche. La scelta tra interferone gamma e interleuchina 4 sembra dipendere da un «programma» insito nella cellula. Una volta che un linfocita *T* ha risposto a un antigene producendo una di queste citochine, esso e la sua progenie non produrranno più l'altra.

Queste osservazioni possono in parte spiegare perché la risposta a un'infezione vari da un individuo all'altro. Le leishmaniosi che affliggono il genere umano possono avere decorsi differenti; la maggior parte degli individui respinge il parassita senza sviluppare sintomi, ma in alcuni casi l'infezione progredisce. Ora sappiamo che il tipo di citochine prodotte dai linfociti *T* del paziente può contribuire alla gravità dell'infezione.

Un'analoga divergenza nei meccanismi immunitari sembra intervenire nel caso della lebbra. Nella lebbra tubercoloide, la più attenuata tra le due forme principali di questa malattia, le lesioni cutanee contengono ben pochi bacilli. Le cellule *T* degli individui con la forma tubercoloide producono interferone gamma. Al contrario, i pazienti con la grave forma lepromatosa della malattia hanno lesioni contenenti un elevato numero di bacilli intracellulari; la loro risposta immunitaria è dominata dai linfociti *T* che producono interleuchina 4.

Nel caso della tubercolosi le conoscenze sono ancora incomplete. Sappiamo comunque che la maggior parte degli individui può sopravvivere all'infezione tubercolare perché una risposta immunitaria altamente efficiente previene la diffusione dei bacilli al di fuori di piccole lesioni circondate da globuli bianchi. Solo in un ristretto numero di pazienti la malattia progredisce e diviene fatale se non trattata. Sembra verosimile che il differente decorso dell'infezione possa essere determinato dal fatto che la risposta dei linfociti *T* CD4 sia dominata in alcuni casi dalla liberazione di interferone gamma, altamente protettivo, in altri dalla produzione delle interleuchine 4 e 10, che posseggono spiccate capacità d'inibire l'attività macrofagica.

La conoscenza dettagliata di questi differenti meccanismi potrebbe un giorno dimostrarsi di grande utilità nella terapia vaccinica. Bloccando l'effetto dell'interleuchina 4 al momento della vaccinazione, si potrebbe un giorno indurre le cellule *T* stimolate dall'antigene a produrre interferone gamma. Si è già dimostrato sperimentalmente che in topi trattati con anticorpi monoclonali anti-interleuchina 4 allo stabilirsi dell'infezione da *Leishmania* è possibile controllare la diffusione del parassita. Sembra che tali anticorpi da una parte neutralizzino l'interleuchina, mentre dall'altra permettano alle cellule *T* di divenire linfociti produttori di interferone gamma.

All'opposto, ceppi di topi resistenti a *Leishmania*, se trattati contemporaneamente con il parassita e interleuchina 4, sviluppano una grave infezione. Opportune strategie vacciniche dovrebbero quindi massimizzare la produzione di interferone gamma al momento dell'immunizzazione e bloccare o eliminare l'azione dell'interleuchina 4. Di recente si è scoperta una nuova citochina, denominata interleuchina 12, che è risultata una notevole induttrice di linfociti *T* CD4 producenti interferone gamma. L'uso d'interleuchina 12 nella vaccinoterapia merita dunque approfonditi studi.

A somiglianza di molti batteri e parassiti come *Leishmania*, i virus stabiliscono infezioni all'interno delle cellule dell'organismo, dove gli anticorpi non possono agire. A differenza di *Leishmania*, tuttavia, i virus vivono nel fluido che occupa lo spazio interno delle cellule (citosol) e non entro i vacuoli o gli organelli. Essi interagiscono liberamente con molte componenti cellulari: utilizzano, per esempio, l'apparato per la sintesi proteica delle cellule umane per produrre le proprie proteine. Di conseguenza le proteine virali si mescolano con le normali proteine cellulari invece di rimanere chiuse all'interno di un vacuolo ben delimitato. Tali proteine diventano così un bersaglio meno facile per le molecole del sistema immunitario.

Nonostante queste forti interazioni virus-cellula, le molecole MHC dell'organismo sono in grado di individuare e

Come il sistema immunitario combatte *Leishmania*

1
Le molecole MHC (maggior complesso d'istocompatibilità) di classe II prodotte dal macrofago infettato si legano a peptidi del parassita. La molecola MHC trasporta i peptidi alla superficie della cellula.

2
I linfociti *T* CD4 che hanno recettori complementari sono attivati dal complesso peptide-MHC e dalla molecola B7 alla superficie del macrofago.

3
I linfociti *T* attivati secernono citochine che si legano a specifici recettori sul macrofago. Dal canto suo, il macrofago produce fattore di necrosi tumorale, ossido d'azoto e altri fattori che uccidono i parassiti.

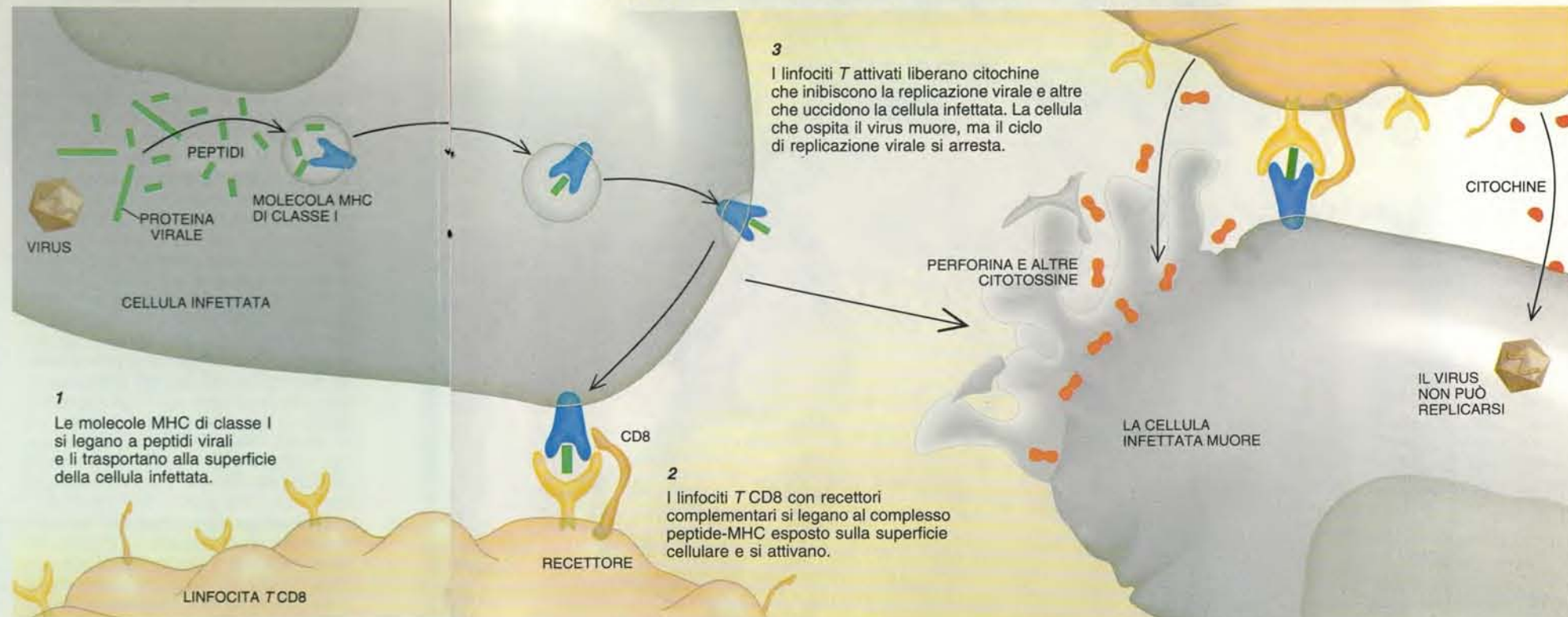
presentare frammenti peptidici di proteine virali. Il meccanismo è sostanzialmente simile a quello che rivela al sistema immunitario l'esistenza dell'infezione da *Leishmania*, ma vi sono alcune importanti differenze. Innanzitutto, le molecole MHC che possono legarsi ai peptidi nel citosol sono di classe I, e la loro struttura è diversa da quella delle molecole MHC di classe II. Quando le proteine virali e cellulari sono frammentate nel citosol, vengono trasportate nel reticolo endoplasmatico rugoso da apposite molecole. Ivi, i peptidi sono «caricati» sulle molecole MHC di classe I; dopo ulteriore elaborazione, i complessi MHC-peptide sono veicolati alla superficie della cellula in vescicole secretorie. Una volta inseriti nella membrana plasmatica, i complessi possono essere riconosciuti dalle cellule *T*. In questo caso, tuttavia, le cellule sono linfociti *T* CD8, che hanno recettori specifici per le molecole MHC di classe I.

Quando i linfociti *T* CD8 individuano peptidi antigenici, spesso agiscono in modo da uccidere, direttamente o meno, la cellula infettata. Questi linfociti possono eliminare la cellula bersaglio per mezzo di perforine e altre proteine che compromettono l'integrità della membrana cellulare. Si è recentemente osservato che le cellule *T* CD8 (citotossiche) possono indurre morte cellulare anche attraverso un meccanismo definito apoptosi, attivando un segnale preprogrammato che ordina alla cellula di autodistruggersi. Inoltre le cellule *T* CD8 attivate liberano potenti citochine, quali interferone gamma e fattore di necrosi tumorale. Queste molecole limitano la replicazione virale all'interno della cellula e nello stesso tempo attirano macrofagi e altri fagociti in grado di ucciderla.

Il controllo delle infezioni virali attraverso la distruzione delle cellule infettate dell'organismo ha alcuni notevoli vantaggi. Se il reclutamento di peptidi antigenici da parte delle molecole MHC di classe I e la successiva risposta da parte dei linfociti *T* sono abbastanza veloci, le cellule infettate possono essere distrutte prima che i costituenti del virus siano completamente assemblati. In tal modo una particella virale che lasci la cellula uccisa non ne potrà infettare altre e l'infezione sarà sopraffatta prima ancora di potersi propagare.

D'altro canto, la risposta immunitaria mediata dalle cellule *T* CD8 ha in sé la potenzialità di recare danno allo stesso organismo ospite. Se un virus si moltiplica e si diffonde rapidamente, i tentativi del sistema immunitario di contenerlo potrebbero non fare altro che lasciare una scia di morte cellulare lungo il cammino del virus, senza mai riuscire a fermarlo del tutto. Il danno tissutale associato all'infezione deriverebbe pertanto dall'effetto combinato del virus e della reazione immunitaria. In generale, l'entità del danno tissutale causato da una tale infezione sarà in larga misura determinata dalla velocità con cui la risposta immunitaria progredisce in relazione all'avanzare del virus.

La risposta immunitaria antivirale diviene anche più problematica quando l'infezione virale causa poco o nessun danno alle cellule, e in effetti molti virus possono infettare le cellule senza comprometterne seriamente le funzioni. Queste infezioni virali non citopatiche possono tuttavia provocare una potente reazione dei linfociti *T* CD8. Se il virus «innocuo» si diffonde con sufficiente velocità, le cellule *T* finiscono con l'attaccare un gran numero di cellule dell'ospite. In questo caso, la malattia deriva non dall'infezione virale, ma dalla reazione immunitaria contro di essa.

Una dimostrazione sperimentale del danno che tale tipo di risposta immunitaria può provocare viene dalla ricerca sul virus della coriomeningite linfocitaria (LCMV) che infetta i tessuti del sistema nervoso, ma presenta una patogenicità intrinseca assai bassa. Se topi neonati vengono inoculati con LCMV, si osserva che l'infezione si propaga nei loro tessuti, ma la malattia non si manifesta. Questo fenomeno è dovuto al fatto che il loro sistema immunitario ancora immaturo impara a divenire tollerante nei confronti degli antigeni virali come se fossero normali costituenti dell'organismo; di conseguenza i linfociti *T* ignorano le cellule infettate dall'LCMV. Se tuttavia si inoculano in questi topi cellule citotossiche specifiche per antigeni di LCMV la risposta immunitaria è imponente e spesso provoca la morte.

Un buon numero di infezioni non citopatiche che colpiscono il genere umano segue un simile modello di comportamento. Per esempio, i portatori cronici del virus dell'epatite B spesso ne risentono le conseguenze in forma di danno epatico, nonostante il virus in questione sia un patogeno del tutto innocuo. La distruzione delle cellule epatiche infettate è quasi certamente conseguenza dell'attacco portato da cellule *T* citotossiche, che si possono isolare sia dal sangue sia dal tessuto epatico dei pazienti.

Ci sono indicazioni del fatto che il sistema immunitario potrebbe talvolta sovvertire la propria reazione a un'infezione virale se quella risposta potesse far più danno all'ospite che non il virus stesso. Si è trovato che, in seguito all'inoculazione nei topi di enormi quantità di virus LCMV, le cellule *T* CD8 che dovrebbero essere reclutate contro l'infezione si attivano, ma poi muoiono rapidamente. In effetti, sembra probabile che tale morte cellulare sia il frequente esito di una risposta linfocitaria eccessiva a uno stimolo antigenico.

L'eliminazione di quelle cellule *T* dotate di specificità verso l'antigene crea un vuoto strategico nella difesa immunologica. Contro un virus non citopatico, questo deficit può andare a beneficio dell'organismo infettato, poiché permette alle cellule che contengono il virus di sopravvivere. Si potrebbe sostenere che l'eliminazione delle cellule *T* esposte a un'imponente carica infettante sia un adattamento del sistema immunitario a un'infezione che non potrebbe essere controllata senza causare un danno irreparabile all'ospite. Nella misura in cui la persistenza del virus non porta alla morte delle cellule che lo ospitano o ad anomalie neoplastiche, la mancanza di una risposta immunitaria finisce per proteggere l'organismo dalla malattia.

Questi esempi dimostrano la fallibilità di questo sistema difensivo elegante, ma imperfetto; gli stessi meccanismi che forniscono protezione contro certi tipi di malattia talvolta inducono una patologia per altre vie. Forse la dimostrazione più crudele di questo principio viene da quelle infezioni virali che sfruttano le cellule e le interazioni del sistema immunitario allo scopo di propagarsi. In tali casi, la risposta immunitaria favorisce il progredire dell'infezione virale anziché contenerla.

Questo è esattamente ciò che accade a coloro che vengono infettati dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Il virus risiede preferenzialmente nei linfociti *T* CD4 e in altre cellule del sistema immunitario. È noto che le cellule *T* attivate sono più «ospitali» verso i virus che devono crescere rispetto alle cellule *T* in stato di quiescenza; di conseguenza, più allertato risulta il sistema immunitario, migliori saranno le condizioni per la crescita virale. Inoltre citochine quali il fattore di necrosi tumorale, che le cellule *T* producono quando riconoscono antigeni virali, possono efficacemente stimolare la replicazione virale all'interno dei linfociti *T* CD4. Pertanto l'HIV utilizza le più sofisticate difese del sistema immunitario per prolungare la propria stessa sopravvivenza.

Malattie come l'AIDS sono un doloroso esempio delle sfide che i microrganismi patogeni continuano a porre alle difese immunitarie dell'uomo. L'enorme diversità e capacità di mutare degli agenti infettivi consente facilmente di prevedere che un tale tipo di sfida non verrà meno nel futuro. Tuttavia la nostra conoscenza delle basi molecolari della risposta cellulare continua a fare progressi e promette di indicare nuove strade per minimizzare il danno tissutale e controllare le infezioni. Riuscire a migliorare le risposte immunitarie sarà di fondamentale importanza per aver ragione delle sfide attuali e future portate all'umanità dai microrganismi.

Come il sistema immunitario combatte le infezioni virali

I virus invadono le cellule legandosi a certe molecole di superficie e penetrando attraverso la membrana; giunti all'interno della cellula, utilizzano molte componenti cellulari per replicarsi. I virus citopatici danneggiano e talvolta uccidono la cellula ospite tramite questi processi. Le risposte immunitarie che sono efficaci contro altri tipi d'infezione possono non funzionare contro i virus.

BIBLIOGRAFIA

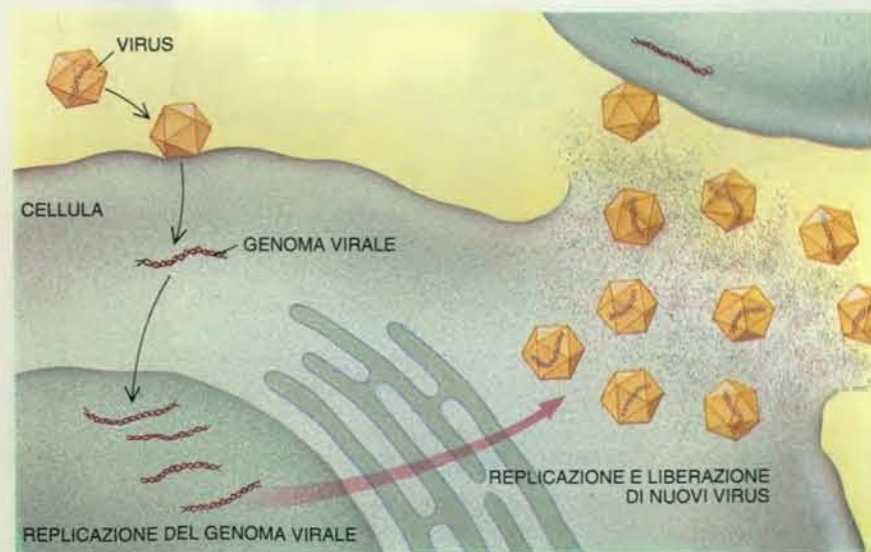
MIMS CEDRIC A., *The Pathogenesis of Infectious Disease*, Academic Press, 1987.

ADA GORDON L., *Vaccines* in *Fundamental Immunology*, a cura di William E. Paul, Raven Press, 1989.

DOHERTY P. C., ALLAN W., EICHELBERGER M. e CARDING S. R., *Roles of αβ and γδ T Cell Subsets in Viral Immunity* in «Annual Review of Immunology», 10, pp. 123-151, 1992.

SHER A. e COFFMAN R. L., *Regulation of Immunity to Parasites by T Cells and T Cell-Derived Cytokines* in «Annual Review of Immunology», 10, pp. 385-409, 1992.

KAUFMANN STEFAN H. E., *Immunity to Intracellular Bacteria* in «Annual Review of Immunology», 11, pp. 129-163, 1993.

Un linfocita *T* infettato dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV) presenta un caratteristico aspetto irregolare. Le protuberanze colorate in verde in questa microfotografia elettronica sono particelle virali in corso di gemmazione.

L'AIDS e il sistema immunitario

Il fatto che il virus responsabile dell'AIDS sfrutti per replicarsi le stesse cellule del sistema immunitario dell'ospite ha ostacolato sino ad oggi la messa a punto di terapie specifiche e di vaccini efficaci

di Warner C. Greene

Sono trascorsi dodici anni da quando la sindrome da immunodeficienza acquisita, una patologia mortale del sistema immunitario, si è imposta all'attenzione dei medici e del pubblico. Il termine AIDS, o il suo equivalente in altre lingue, è da allora diventato di uso comune in tutto il mondo. Altre patologie causano risposte immunitarie inappropriate, come illustrano molti esempi in questo fascicolo, ma l'AIDS merita considerazioni particolari.

In primo luogo, è ormai tragicamente chiaro che il virus dell'immunodeficienza umana (HIV), l'agente eziologico dell'AIDS, è una delle principali minacce per la salute pubblica in tutto il mondo. In un articolo sull'epidemiologia dell'AIDS pubblicato in «Le Scienze» nel dicembre 1988, Jonathan M. Mann, James Chin, Peter Piot e Thomas Quinn stimavano che nel mondo si fossero manifestati oltre 250 000 casi della malattia e che da 5 a 10 milioni di persone fossero infettate dall'HIV. Cinque anni dopo la situazione è molto più grave.

La Global AIDS Policy Coalition, una associazione coordinata da Mann, ora stima che il numero di persone infettate alla fine del 1987 fosse in realtà di sette milioni, mentre gli individui infettati alla fine del 1992 sarebbero 19,5 milioni, quasi tre volte la cifra precedente. Sebbene esistano farmaci che possono prolungare in qualche misura la vita dei pazienti, la grande maggioranza di questi, a meno che non vengano compiuti progressi fondamentali, morirà certamente per qualche patologia correlata all'AIDS. Oltre tre milioni di persone hanno già manifestato AIDS conclamato e gran parte di esse è morta. Stime attendibili del numero di casi di infezione da HIV prevedibili per l'anno 2000 vanno da 40 milioni a oltre 110 milioni; questa seconda cifra rappresenta circa il 2 per cento dell'attuale popolazione mondiale.

Certamente altre malattie, come la malaria, causano ancora più vittime che non l'AIDS, ma la rapida diffusione dell'HIV, assieme alla mancanza di un vaccino o di un trattamento soddisfacente, rende questa patologia particolarmente allarmante. Nuove infezioni - ora derivanti in gran parte da rapporti eterosessuali - continuano ad avvenire alla velocità stimata di una ogni 15 secondi. Nessun paese o gruppo sociale è esente dal contagio: attualmente l'HIV si sta diffondendo velocemente in Asia orientale, una regione che era stata per lo più risparmiata nei primi anni della pandemia. In tutto il mondo, le donne rappresentano oggi circa il 40 per cento dei pazienti di AIDS; circa il 10 per cento sono bambini nati da madri infettate. Le campagne di informazione pubblica dirette a ridurre la trasmissione del virus - consistenti soprattutto in esortazioni alle persone sessualmente attive a usare il profilattico, e a coloro che assumono droghe a sterilizzare aghi e siringhe - hanno avuto un successo limitato.

La seconda ragione per esaminare a fondo l'HIV è che si tratta senza dubbio del virus più intensivamente studiato della storia. Abbiamo già una conoscenza schematica di come funzionino i geni e le proteine del virione (o particella virale) dell'HIV; ciò che ci manca, tuttavia, è una visione chiara dei meccanismi che gli permettono di replicarsi e di distruggere il sistema immunitario.

Devo sottolineare che tutti i ricercatori responsabili sono convinti che l'HIV sia effettivamente la causa primaria dell'AIDS. Lo scorso anno un piccolo numero di casi di individui immunodeficienti, ma non infettati dall'HIV, ha ricevuto una pubblicità eccessiva, e ciò ha alimentato la convinzione ingiustificata che esista un altro agente eziologico dell'AIDS non rilevato dagli attuali metodi di analisi del sangue. Questo spiacevole episodio non ha fatto altro che aumentare i timori irrazionali che circondano la malattia; in realtà, non c'è ragione di credere che la patologia di questi pazienti sia stata causata da un virus, o che si stia diffondendo.

Tuttavia esistono molti ceppi differenti dell'HIV, e gli studi epidemiologici e di laboratorio fanno pensare che alcuni siano più pericolosi di altri. L'HIV-2, per esempio, che è prevalente nell'Africa occidentale, sembra produrre una forma meno grave della malattia rispetto all'HIV-1, il ceppo più comune altrove. È anche possibile che esistano rari ceppi benigni. Negli Stati Uniti alcuni omosessuali maschi sono infettati dall'HIV da almeno 11 anni, e tuttavia non presentano alcun segno di danno al sistema immunitario. Insieme con i colleghi Susan P. Buchbinder, Mark B. Feinberg e Bruce D. Walker, sto studiando questi individui per accertare se il fenomeno possa essere spiegato da una qualche caratteristica insolita del loro sistema immunitario, oppure se essi siano portatori di un ceppo non virulento.

La maggior parte degli esperti ritiene non solo che l'HIV sia la causa primaria dell'AIDS, ma anche che basti la sola infezione da HIV per provocare nel tempo profonde disfunzioni immunitarie; non sembra necessario alcun altro agente patogeno specifico. Pare invece probabile che in un portatore di HIV l'insorgere dell'immunodeficienza possa essere accelerato da altre infezioni e

proprio questo problema è al centro di molti studi. Le infezioni opportuniste, che molte volte complicano il quadro clinico dei pazienti infettati dall'HIV, sono spesso la vera causa della morte; tuttavia una buona conoscenza dell'HIV è indispensabile per capire l'AIDS.

Utilizzando il microscopio elettronico ad alta risoluzione si è visto che il virione dell'HIV è grosso modo sferico e ha un diametro di circa 0,1 micrometri. Il suo rivestimento, o involucro, esterno è costituito da un doppio strato di molecole lipidiche che provengono dalla membrana che circonda le cellule dell'ospite umano. Questo doppio strato è tempestato di proteine, alcune delle quali hanno origine nelle cellule dell'ospite; queste proteine, che sono molecole di classe I e di classe II del maggior complesso di istocompatibilità, hanno, nella loro sede normale, una funzione importante nel controllare la risposta immunitaria.

L'involucro del virione reca anche numerose «punte» formate da proteine virali che sporgono nel mezzo esterno. Ogni punta è costituita probabilmente da quattro molecole di gp120 che si protendono all'esterno e dallo stesso numero di molecole di gp41 inserite nella membrana. (Gp sta per glicoproteina - in quanto le proteine sono legate a glucidi - e il numero si riferisce alla massa della proteina, espressa in migliaia di dalton.) Le proteine dell'involucro svolgono una funzione cruciale quando l'HIV si lega alle cellule bersaglio e vi penetra.

Sotto l'involucro vi è uno strato di proteina della matrice chiamata p17, che a sua volta circonda la parte centrale, o capside. Questo ha la forma di un cono tronco cavo costituito da un'altra proteina, la p24, e contiene il materiale genetico del virus. Dato che l'HIV è un retrovirus, il suo materiale genetico è costituito da RNA (acido ribonucleico) anziché da DNA (acido desossiribonucleico). Due filamenti di RNA di circa 9200 basi nucleotidiche occupano la parte centrale del virus e sono legati a molecole di un enzima, la trascrittasi inversa, che trascrive l'RNA virale in DNA una volta che il virus è entrato in una cellula. Pure presenti assieme all'RNA sono un'integrasi, una proteasi e una ribonucleasi, enzimi di cui descriverò più avanti le funzioni; vi sono inoltre due altre proteine, dette p6 e p7.

La proteina dell'involucro gp120 può legarsi strettamente alla proteina CD4, che si trova sulla membrana di diversi tipi di cellule del sistema immunitario; questa proprietà rende le cellule in questione vulnerabili all'infezione da HIV. Quando la gp120 di un virione si lega alla CD4 presentata da una cellula, le membrane del virus e della cellula si fondono in un processo regolato dalla proteina dell'involucro gp41. Il capside virale e il suo contenuto si trasferiscono allora entro la cellula.

Particolari cellule che presentano la CD4, le cellule dendritiche, sono situate soprattutto nelle mucose; è possibile che nella trasmissione per via sessuale dell'HIV esse siano le prime cellule a essere infettate. Anche macrofagi e monociti espongono la molecola CD4 e sono egualmente vulnerabili; i macrofagi, in particolare, possono trasportare l'HIV in altre parti dell'organismo, compreso il cervello. I principali bersagli dell'HIV, però, sono i linfociti *T helper*, o cellule *T*4, che espongono la molecola CD4. Essi favoriscono l'attivazione di altre componenti del sistema immunitario, in particolare i linfociti *T killer* (che attaccano le cellule infettate dal virus) e i linfociti *B* (che producono anticorpi).

Una volta che il virione dell'HIV è entrato in una cellula, inizia una complessa sequenza di eventi che, se completata, porta alla gemmazione di nuove particelle virali dalla cellula infettata. Quando un individuo è infettato dall'HIV, la sua risposta immunitaria iniziale è vigorosa. Durante questa fase acuta dell'infezione, i linfociti *B* producono anticorpi che neutralizzano il virus e i linfociti *T* killer attivati si moltiplicano e distruggono le cellule infettate, esattamente come avviene in molte altre malattie. Benché sia possibile che il sistema immunitario riesca a combattere con successo l'HIV in uno stadio molto precoce, quando nel sangue sono presenti anticorpi anti-HIV, l'infezione è generalmente permanente.

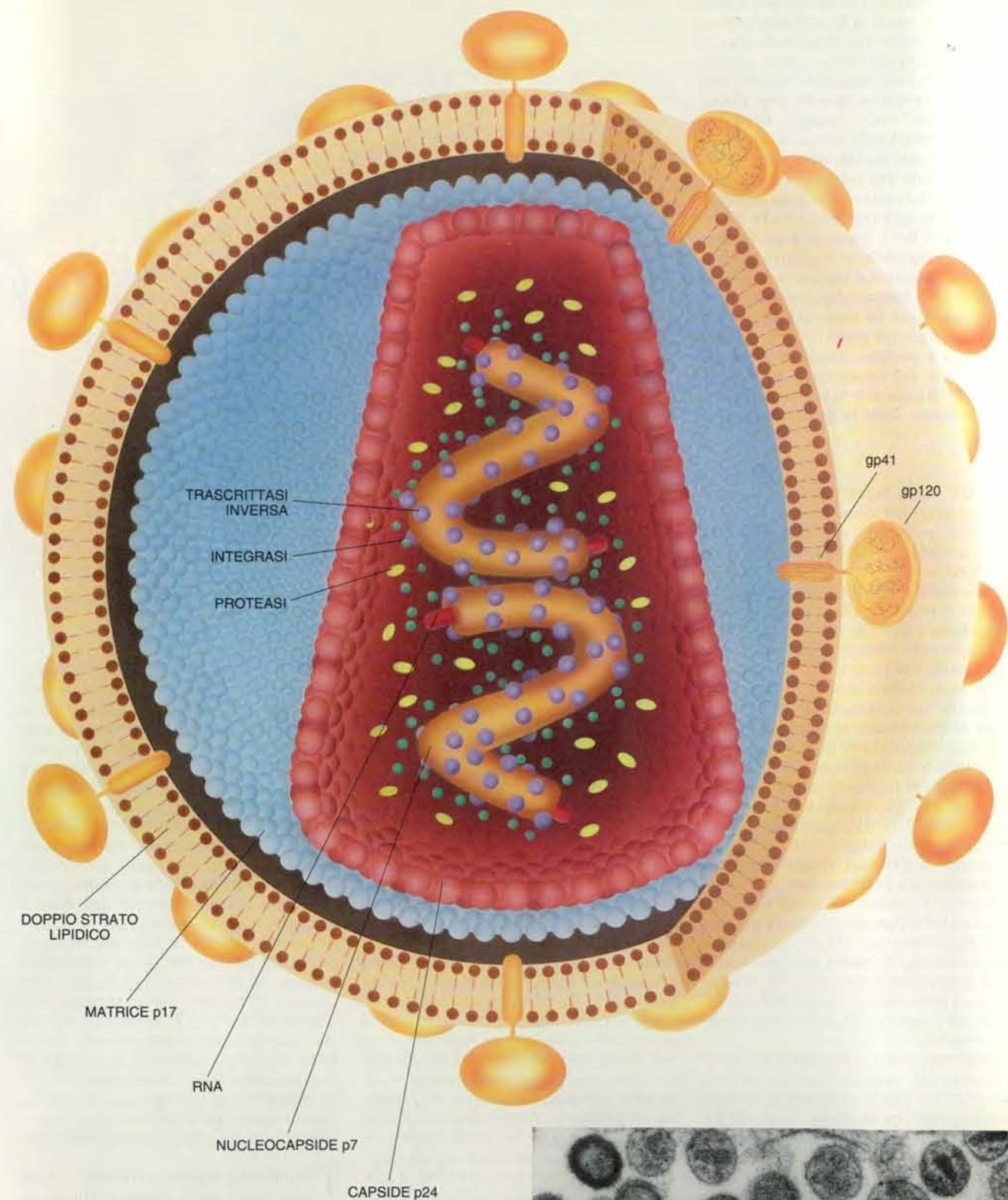
Il quadro clinico dell'infezione acuta da HIV è quello di una lieve forma influenzale, tipicamente con febbre e dolori muscolari, che di solito dura non più di qualche settimana. Durante questo periodo grandi quantità del virus sono presenti nel circolo sanguigno e la trasmissione è con tutta probabilità relativamente facile. L'organismo attiva quindi una risposta immunitaria che comincia a eliminare le cellule infettate e i virus circolanti. Tuttavia una frazione di cellule infettate sfugge all'eliminazione, eludendo le difese dell'ospite, e il virus continua a replicarsi in maniera meno intensa anche per un decennio. Per gran parte di questo periodo di infezione cronica, il paziente appare di solito in buona salute; solo dopo diversi anni il virus comincia a danneggiare il sistema immunitario in modo così significativo da permettere la comparsa di infezioni e neoplasie opportuniste.

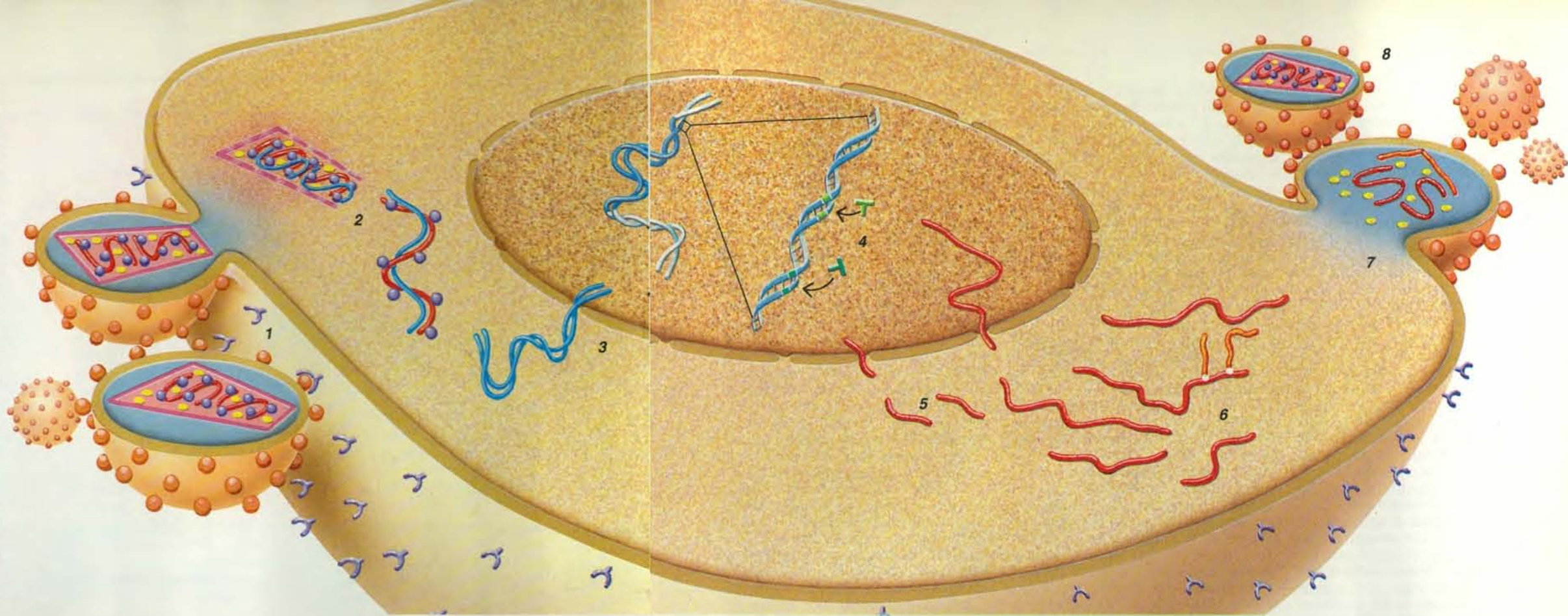
Le ipotesi su come avvenga il danno al sistema immunitario sono cambiate notevolmente negli ultimi anni. Quando Michael S. Gottlieb dell'Università della California a Los Angeles descrisse per la prima volta nel 1981 la sindrome clinica che in seguito venne denominata AIDS, notò che i suoi pazienti avevano un numero molto basso di linfociti *T*4 nel sangue. Da allora è stato dimostrato che queste cellule diminuiscono gradualmente di numero durante la lunga fase subclinica dell'infezione cronica, passando da circa 1000 per millimetro cubo di sangue a meno di 100. Questa osservazione ha ovviamente suggerito che il decremento delle cellule *T*4 fosse responsabile del simultaneo declino della funzionalità immunitaria.

Per un certo tempo è parso possibile che l'HIV causasse il decremento dei linfociti *T*4 semplicemente infettandoli e uccidendoli, ma ora molti ritengono che il meccanismo sia più complesso. Anche nei pazienti agli ultimi stadi dell'infezione da HIV, in cui il numero di linfociti *T*4 è molto basso, la frazione di questi linfociti che produce HIV è piccola, circa uno su 40. Nei primi stadi dell'infezione cronica meno di uno su 10 000 linfociti *T*4 del sangue produce particelle virali. Se il virus uccidesse i linfociti solo infettandoli direttamente, la frazione infettata in ogni dato momento dovrebbe quasi certamente essere più grande.

Un altro indizio che il processo in atto sia più complicato viene da un recente esperimento di Donald E. Mosier e colleghi dello Scripps Research Institute di La Jolla, in California. Essi hanno scoperto che i ceppi di HIV più efficaci nell'uccidere i linfociti *T*4 in coltura non sono necessariamente quelli che causano il maggiore decremento di cellule *T*4 in topi manipolati geneticamente, privi di sistema immunitario, che abbiano ricevuto trasfusioni di linfociti *T*4 umani. Se l'attacco diretto da parte del virus non è l'unica ragione del declino dei linfociti *T*4 nel sangue, quali sono le altre possibilità? Esiste un gran numero di teorie plausibili, sebbene nessuna sia stata provata, e in effetti potrebbero essere attivi molti meccanismi differenti. Una possibilità è che i linfociti *T* killer non infettati possano cominciare a distruggere le cellule immunitarie infettate, compresi i linfociti *T* helper. Altre ipotesi proposte sono più complesse. Gli anticorpi che riconoscono la gp120 e la gp41 dell'involucro virale potrebbero anche legarsi agli antigeni di istocompatibilità delle cellule sane e inibirne l'azione, rendendo meno efficace la risposta immunitaria. Alcuni ricercatori hanno proposto che ciò possa avvenire perché la gp120 e la gp41 hanno caratteristiche simili agli antigeni di istocompatibilità; in alternativa, queste somiglianze potrebbero far sì che la gp120 induca un attacco immunitario contro le cellule *T*4 sane.

Un'altra ipotesi si basa sul fatto che normalmente i linfociti *T* sono stimolati a dividersi quando i loro recettori di superficie riconoscono una proteina estranea su un'altra cellula. Complessi di gp120 e gp41 staccatisi dall'HIV, insieme con anticorpi, potrebbero legarsi alle molecole CD4 dei linfociti *T*, in modo da impedire la proliferazione di questi ultimi rendendoli anergici (si veda l'articolo *L'inattivazione dei linfociti* T di Ronald H. Schwartz in «Le Scienze» n. 302, ottobre 1993).

Recenti esperimenti indicano un'ulteriore possibilità. Negli individui infettati

Anatomia dell'HIV: la microscopia elettronica e altre tecniche di indagine hanno permesso di determinare la complessa struttura del virus dell'AIDS (*sopra*). Il capside a forma di cono tronco racchiuso in un involucro sferico è la caratteristica predominante. La microfotografia a destra mostra particelle di HIV in uno spazio intracellulare all'interno di un macrofago umano in coltura. Nei virioni maturi è possibile distinguere il capside, che manca nelle particelle immature.

Il ciclo vitale dell'HIV comincia quando le particelle virali si legano ai recettori CD4 della membrana di un linfocita (*1*) e sono attratte all'interno della cellula. Il capside virale allora si decompone parzialmente (*2*) mentre la trascrittasi inversa (*sfere viola*) produce DNA (*in blu*) dall'RNA virale (*in rosso*). Il DNA virale entra nel nucleo, dove è integrato nei cromosomi dell'ospite (*3*). Le proteine della cellula ospite si legano al DNA, dando inizio alla trascrizione (*4*). Brevi trascritti di RNA lasciano il nucleo (*5*) e sintetizzano proteine regolatrici virali. Successivamente dal nucleo fuoriescono RNA medi e lunghi, che generano proteine strutturali ed enzimatiche (*6*). La proteasi virale (*in giallo*) si attiva allorché RNA e proteine virali (*in arancione*) entrano nel nuovo virus in gemmazione (*7*). Il capside e le altre componenti si formano dopo la gemmazione (*8*).

dall'HIV, molti linfociti *T* - anche quelli non raggiunti dal virus - commettono un «suicidio cellulare», anziché dividersi come dovrebbero, quando sono stimolati da proteine estranee. Questa funzione geneticamente controllata, chiamata apoptosi o morte cellulare programmata, normalmente avviene nel timo e serve a eliminare quei linfociti *T* che altrimenti attaccherebbero i tessuti dell'organismo. Ma Joseph M. McCune e colleghi della SyStemix hanno dimostrato che l'infezione da HIV induce apoptosi diffusa in topi che, mancando di sistema immunitario, hanno ricevuto trapianti di cellule del timo e del fegato di feti umani.

I ricercatori della SyStemix hanno osservato che l'HIV ha causato una rapida distruzione delle cellule di timo che presentavano la CD4 nel tessuto impiantato, insieme con i caratteristici segni dell'apoptosi. Un processo simile potrebbe avvenire nelle persone infettate e potrebbe spiegare perché l'AIDS progredisca rapidamente nella prima infanzia, quando il sistema immunitario si sta sviluppando. I meccanismi che potrebbero indurre un'apoptosi massiccia sono tuttavia sconosciuti.

Quali che siano i meccanismi, sono emersi indizi importanti sul sito in cui avviene gran parte del danno al sistema immunitario. Ora si sa che i linfociti *T4* del sangue non sono il sito principale di replicazione virale durante la fase cronica asintomatica dell'infezione. Giuseppe Pantaleo, Anthony S. Fauci e colleghi del National Institute of Allergy and Infectious Diseases hanno dimostrato che la replicazione dell'HIV avviene in gran parte non nel sangue, ma nei numerosissimi linfonodi presenti nell'organismo. I linfonodi sono i siti dove i linfociti *T4*, assieme ad altre cellule immunitarie quali i linfociti *B*, si radunano per reagire agli invasori.

Pantaleo e collaboratori hanno documentato come l'HIV distrugga gradualmente i linfonodi. Questa scoperta indica che il declino del numero di linfociti *T4* nel sangue potrebbe essere il risultato del danno ai linfonodi. In effetti, il rigonfiamento di questi organi è da tempo riconosciuto come un segno precoce dell'infezione ma, per comodità, i ricercatori si sono forse erroneamente concentrati sulla variazione del numero di cellule del sangue e sulla quantità di RNA virale - un marcatore del virus - nel circolo ematico.

La centralità del ruolo dei linfonodi potrebbe spiegare un'osservazione piuttosto strana. Nelle prime fasi dell'infezione cronica la quantità di RNA virale nel sangue è molto bassa; anzi, è spesso impossibile da rilevare con le tecniche convenzionali. Via via che i sintomi si sviluppano, essa cresce rapidamente e può avvicinarsi al massimo livello che era stato raggiunto durante la fase acuta iniziale, prima che si scatenasse la risposta immunitaria. Alcuni studiosi hanno ipotizzato che qualche tipo di segnale induca un'ondata ritardata di rapida replicazione virale che annuncerebbe il manifestarsi dell'AIDS conclamata. Tuttavia recenti progressi nelle tecniche analitiche che permettono di rilevare anche piccole quantità di virus mettono in dubbio questa spiegazione.

Ora invece è chiaro che il carico virale è notevole e costantemente crescente per gran parte della fase cronica asintomatica dell'infezione. Il brusco aumento di RNA virale nel sangue negli ultimi stadi dell'infezione si può attribuire all'«esaurimento» dei linfonodi. Questi contengono cellule dotate di delicate proiezioni digitiformi, le cellule dendritiche follicolari, che normalmente hanno la funzione di presentare gli antigeni ai linfociti *T4*, ma servono anche a filtrare vari agenti infettivi. I linfonodi esauriti infettati dall'HIV potrebbero non essere più capaci di sequestrare con efficacia il virus, e consentirne il passaggio nel circolo ematico. Che cosa esattamente causi la morte delle cellule dendritiche follicolari resta un mistero, ma il processo può essere rilevante quanto la distruzione dei linfociti *T4*.

Questa ipotesi trae ulteriore sostegno dall'osservazione che, ancor prima che i linfociti *T4* di un paziente inizino a diminuire di numero, un sottogruppo denominato linfociti *T* memoria, la cui funzione è quella di «ricordare» le proteine estranee, comincia a rispondere anormalmente alla stimolazione; alla fine queste cellule scompaiono. Di nuovo, questo fenomeno potrebbe essere la conseguenza della sofferenza dei linfonodi.

Il declino del numero di linfociti *T4* nel sangue può allora essere al più un indicatore indiretto di un danno che avviene altrove nell'organismo. Se le cose stanno così, è chiaro quanto sia importante impedire al virus di moltiplicarsi anche nei primissimi stadi dell'infezione. Una strategia che è stata tentata è quella di liberare nel sangue recettori CD4 «di disturbo», i quali dovrebbero legarsi alle particelle dell'HIV impedendo loro di aderire alle cellule che portano i recettori CD4. Finora i risultati sono stati deludenti, soprattutto contro i ceppi naturali del virus. È probabile che in futuro ci si concentrerà sul tentativo di impedire al virus di replicarsi una volta entrato nella cellula.

Migliaia di meticolosi esperimenti, molti dei quali condotti con ceppi di HIV appositamente deattivati, hanno dimostrato che in una cellula infettata da questo virus vi è un'interazione complessa ma elegante fra le proteine prodotte dall'RNA virale e quelle prodotte normalmente nelle cellule sane. Un fatto evidente, e significativo per la messa a punto di terapie, è che solo nelle condizioni opportune l'HIV può completare il proprio ciclo vitale e liberare una numerosa progenie che diffonde l'infezione.

Il primo evento che avviene nella cellula infettata è che il messaggio codificato dai due filamenti di RNA dell'HIV è convertito in DNA dalle molecole di trascrittasi inversa legate all'RNA virale. Il processo è il contrario della trascrizione normale, che produce RNA dal DNA. La trascrittasi inversa si muove lungo l'RNA e costruisce una catena equivalente di DNA assemblando «mattoni» nucleotidici; quando il primo filamento di DNA è completato, la trascrittasi inversa comincia a costruire un secondo filamento di DNA usando il primo come stampo.

La trascrittasi inversa impiegata dall'HIV non è molto precisa: in media introduce un errore, o mutazione, ogni 2000 nucleotidi incorporati. A questa scarsa fedeltà intrinseca è dovuta la notevole capacità dell'HIV di divenire resistente a vari farmaci, poiché nel corso dell'infezione si generano costantemente nuove varianti delle proteine virali.

I farmaci antivirali che sono stati approvati negli Stati Uniti per il trattamento dell'infezione da HIV - l'azidotimidina (conosciuta anche come AZT o zidovudina), la didesossicitidina (ddC) e la didesossiinosina (ddI) - funzionano tutti interferendo con la trascrizione inversa. Ognuno di essi è abbastanza simile a uno dei quattro nucleotidi che la trascrittasi inversa unisce per costruire il DNA. Quando l'enzima incorpora in un filamento di DNA in crescita la molecola di uno di questi farmaci, anziché un vero nucleotide, il filamento non può essere prolungato ulteriormente.

L'alta velocità di mutazione implica che, nel giro di qualche mese, nell'organismo appaiano trascrittasi inverse varianti che possono produrre DNA virale anche in presenza dei farmaci. Questa rapida evoluzione darwiniana che avviene nei pazienti, unita alla tossicità dei farmaci stessi, quasi certamente spiega perché i benefici dell'AZT e dei suoi analoghi siano solo temporanei.

Sono state proposte altre potenziali terapie dirette a bloccare la trascrittasi inversa, una delle quali è la «triplice terapia convergente» ideata da Yung-Kang Chow e colleghi della Harvard Medical School. Essi hanno riferito in «Nature» che le mutazioni che la trascrittasi inversa subisce in presenza di una miscela di azidotimidina, didesossiinosina e un altro farmaco, nevirapina o piridinone, sono così estreme che l'enzima diventa inefficace. Da allora è stato notato un errore nel loro studio, anche se la sperimentazione clinica è in corso; tuttavia ho il sospetto che l'HIV non soccomberà facilmente ai farmaci diretti contro un singolo stadio del suo ciclo vitale.

Recenti scoperte hanno indicato altri metodi con cui si potrebbe intralciare la replicazione virale fin dalle prime fasi. Irvin S.Y. Chen e colleghi della School of Medicine dell'UCLA hanno compiuto esperimenti che mostrano come la trascrizione inversa non possa essere completata a meno che la cellula *T* ospite non sia attivata da una proteina estranea. Altri risultati, ottenuti da Mario Stevenson e collaboratori del Medical Center dell'Università del Nebraska, indicano che è lo stadio successivo del processo di replicazione a essere bloccato nelle cellule inattivate. In questa fase i due filamenti di DNA prodotti dalla trascrittasi inversa vengono integrati nei cromosomi della cellula ospite dall'integrasi presente nel virione dell'HIV.

In ogni caso, l'implicazione notevole è che una sostanza che viene prodotta nel linfocita *T4* quando è attivato sia fondamentale per l'integrazione del virus nella cellula ospite. Quando non è integrato, l'HIV è instabile nella cellula e si decompone nel giro di qualche giorno. Potrebbe essere una debolezza che vale la pena di sfruttare. Vari farmaci immunosoppressivi, come la ciclosporina e l'FK506, inibiscono l'attivazione dei linfociti *T*; un protocollo terapeutico che sopprimesse a intervalli l'attivazione dei

linfociti *T* potrebbe prevenire l'integrazione dell'HIV e quindi prolungare la fase asintomatica dell'infezione. Questo approccio non sarebbe privo di rischi, in quanto sappiamo che un sistema immunitario funzionale è indispensabile per il contenimento iniziale del virus. Conducendo esperimenti su scimmie infettate con il SIV, un virus simile all'HIV, si potranno forse mettere in luce benefici e pericoli di questo metodo.

Una volta che i due filamenti di DNA dell'HIV si sono integrati nei cromosomi della cellula ospite, vengono denominati provirus. Per quanto si sa, a questo punto l'infezione è permanente, ma vi sono ancora molti processi da completare prima che la cellula possa generare nuovi virioni. L'HIV è un virus straordinariamente complesso. Mentre alcuni retrovirus riescono a compiere il proprio ciclo vitale con soli tre geni, l'HIV ne ha nove o più, e almeno cinque di essi sono essenziali per la replicazione.

Perché i geni del provirus possano essere funzionali, è necessario che si producano per trascrizione diretta copie di RNA di questi geni, che possano essere lette dai meccanismi di sintesi proteica della cellula ospite. Questo stadio di trascrizione è compiuto dagli stessi enzimi della cellula, compresa la RNA polimerasi II, ma il processo non può iniziare finché la polimerasi non è attivata da «interruttori» molecolari disposti in due siti vicini alle estremità del provirus: le unità ripetitive terminali lunghe. Questa condizione ricorda la necessità, per molti geni degli organismi pluricellulari, di essere attivati da proteine che si legano specificamente a sequenze di controllo chiamate elementi promotori.

Alcune delle proteine di segnalazione cellulare che si legano ai promotori nelle unità ripetitive terminali lunghe dell'HIV sono membri di una famiglia denominata NF-κB/Rel. Presenti in quasi tutte le cellule umane, queste proteine regolatrici incrementano l'attività di trascrizione di molti geni. È significativo che le cellule accelerino la produzione di alcuni membri di questa famiglia quando sono stimolate da proteine estranee o da ormoni che controllano il sistema immunitario. Sembra che l'HIV utilizzi le proteine NF-κB/Rel che derivano dall'attivazione delle cellule immunitarie per favorire la propria trascrizione.

Il virus non si trova sempre la strada spianata: insieme con i miei colleghi Stefan Doerre e Dean W. Ballard, ho scoperto che una proteina cellulare, la c-Rel, membro della stessa famiglia NF-κB/Rel, in realtà intralcia la trascrizione dell'HIV; tuttavia essa viene prodotta più lentamente che non i fattori che stimolano la trascrizione. È chiaro che il virus in qualche modo riesce a farsi trascrivere con frequenza tale da diffondere l'infezione. Inizialmente il provirus si affida alle NF-κB e ad altre proteine presenti nella cellula attivata per avviare la propria trascrizione in RNA. Questo processo, benché in un primo tempo lento, può essere paragonato al rotolare di una pietra che ne mette in moto altre, fino a formare una frana.

I trascritti di RNA del provirus subiscono una complessa elaborazione da parte degli enzimi cellulari. L'infezione di una singola cellula da parte dell'HIV è seguita da due distinte fasi di trascrizione. Nella prima, che dura circa 24 ore, i trascritti di RNA prodotti nel nucleo cellulare sono tagliati in numerose copie di sequenze più brevi dagli enzimi «taglia-e-cuci» cellulari; quando raggiungono il citoplasma, la loro lunghezza è di soli 2000 nucleotidi circa. Questi brevi trascritti della fase iniziale codificano solo per le proteine regolatrici del virus: i geni strutturali che costituiscono il resto del genoma virale sono fra le parti che rimangono indietro.

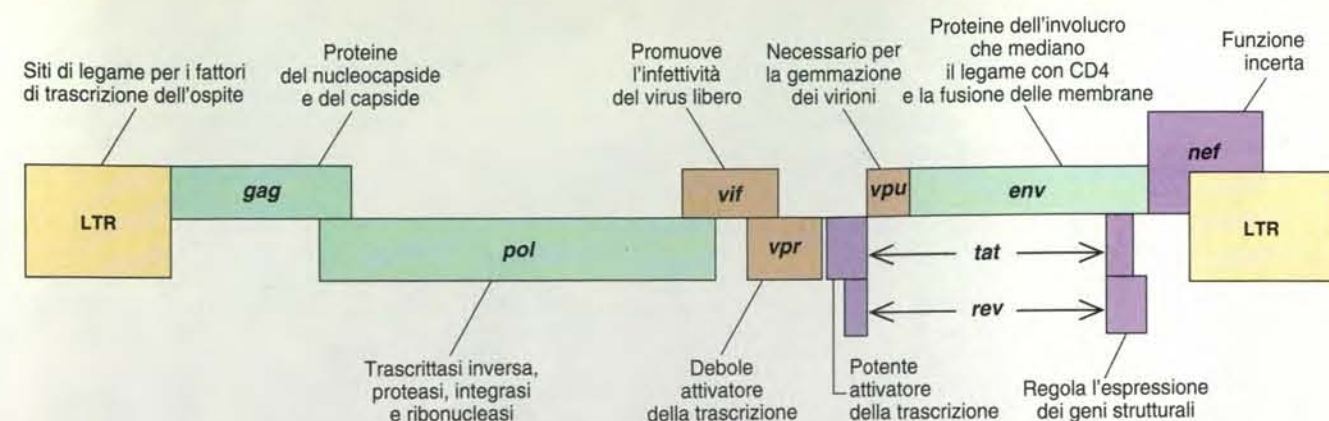
Uno dei primi geni virali a essere trascritto, *tat*, è codificato nei trascritti brevi e produce una proteina regolatrice che accelera la trascrizione del provirus dell'HIV legandosi a una sequenza specifica dell'RNA virale, chiamata TAR. Una volta che la proteina tat si è legata alla sequenza TAR, la trascrizione del provirus da parte dell'RNA polimerasi II cellulare accelera di almeno 1000 volte. Ro31-8959, un composto sintetizzato dalla Hoffmann-La Roche, è il primo di diversi potenziali farmaci che inibiscono la funzione della tat, ed è ora in corso di valutazione in sperimentazioni cliniche.

Un altro gene regolatore espresso in questa prima fase è chiamato *nef*. Fino a poco tempo fa, si riteneva che il ruolo di *nef* fosse quello di sopprimere la trascrizione, ma nuovi esperimenti gettano dubbi su questa interpretazione. La proteina nef potrebbe avere la capacità di modificare la cellula in maniera tale da renderla più adatta alla successiva produzione di virioni dell'HIV. In ogni caso, sembra che la produzione della proteina nef sia necessaria per il manifestarsi dell'AIDS, una scoperta questa che potrebbe rivelarsi importante se si trovasse un modo per bloccarne l'azione.

Una terza proteina regolatrice codificata nei trascritti brevi della prima fase è chiamata rev. Essa ha un ruolo essenziale nel ciclo vitale dell'HIV: specificamente, sembra che modifichi l'elaborazione dei trascritti di RNA virale, trasformandola nello schema che predomina una volta che la cellula è infettata da più di 24 ore. La proteina rev si lega all'RNA virale in corrispondenza di una sequenza che è assente nei trascritti brevi. I trascritti più lunghi che contengono la sequenza di legame con la rev sono confinati nel nucleo durante la prima fase ma, una volta che la quantità di proteina rev nella cellula ha raggiunto un livello sufficiente, il taglio e il trasporto dei trascritti si modificano nello schema caratteristico della fase tarda.

In quest'ultima, due nuovi tipi di trascritti di RNA - trascritti lunghi (non tagliati) di circa 9200 basi e trascritti medi (tagliati una volta) di circa 4500 basi - si spostano dal nucleo al citoplasma. Questi trascritti più lunghi codificano per le proteine strutturali ed enzimatiche dell'HIV. La funzione cruciale della rev in quanto interruttore che attiva la produzione delle proteine strutturali ed enzimatiche del virus ne fa un buon bersaglio per la messa a punto di nuovi farmaci. Purtroppo non è stata finora identificata alcuna sostanza che blocchi con efficacia l'azione della rev senza essere inaccettabilmente tossica.

Si ritiene che i linfonodi siano un sito importante di replicazione dell'HIV. In questa sezione di linfonodo di un paziente nei primi stadi dell'infezione, il tessuto è stato colorato per mostrare la presenza dell'HIV (*punti bianchi*) in zone localizzate.

Una volta che i trascritti lunghi e medi

I geni dell'HIV sono indicati da barre colorate sul DNA del provirus. I geni che si sovrappongono usano la stessa regione di DNA, ma sono letti diversamente dai meccanismi di sintesi proteica della cellula. I geni per le proteine strutturali ed enzimatiche sono in verde, quelli regolatori in viola e gli altri in marrone chiaro; in giallo, le unità ripetitive terminali lunghe.

raggiungono il citoplasma, i meccanismi cellulari di sintesi delle proteine cominciano a costruire le componenti di nuovi virioni. Il gene virale *gag* codifica per le proteine del capside; *pol* codifica per la trascrittasi inversa, la proteasi, l'integrasi e la ribonucleasi; *env* codifica per le due proteine dell'involucro. Altre tre proteine sono codificate dai trascritti più lunghi, e precisamente dai geni *vpr*, *vif* e *vpu*. Il loro effetto sull'infettività virale è ancora poco chiaro; le ultime due potrebbero intervenire nell'assemblaggio di nuovi virioni, ma tutte e tre sembrano essere importanti per le proprietà patogene dell'HIV.

I precursori appena sintetizzati delle proteine che formeranno il capside dei nuovi virioni si aggregano nel citoplasma, assieme a copie complete di RNA virale e ai precursori degli enzimi a esso associati. Essi si trasferiscono tutti alla superficie della cellula e fuoriescono per gemmazione attraverso la membrana, in corrispondenza della quale acquisiscono le membrane lipidiche e le proteine dell'involucro virale. Durante questa fase finale dell'assemblaggio, la proteasi virale si attiva e taglia i precursori, in modo da completare le proteine del capside e gli enzimi. La struttura della proteasi, come quella della trascrittasi inversa, è nota in dettaglio, e sono stati messi a punto farmaci per contrastarne l'azione. La sperimentazione di inibitori della proteasi dell'HIV è in corso presso diversi ospedali; i risultati dovrebbero essere disponibili entro pochi mesi.

La speranza per il futuro dovrebbe essere temperata dalla constatazione che nel 1993, come cinque anni fa, non è ancora in vista alcun trattamento soddisfacente per l'AIDS. Tuttavia sono incoraggiato da quanto abbiamo appreso negli ultimi 12 anni e credo che per la fine del secondo decennio dell'epidemia avremo terapie antivirali sostanzialmente migliori di quelle oggi disponibili. Sono quasi certo che esse consisteranno in combinazioni di farmaci diretti contro fasi diverse del ciclo vitale dell'HIV.

Invece ritengo che vi siano minori ragioni di essere ottimisti sulla prospettiva di un rapido sviluppo di un vaccino di uso pratico. La capacità del virus di mutare rapidamente e di eludere con altri mezzi la risposta immunitaria costituisce un serio ostacolo. Sebbene le sperimentazioni cliniche abbiano mostrato che vaccini prodotti da varie proteine virali, soprattutto da quelle dell'involucro, possono rafforzare la risposta immunitaria umana al virus nei test di laboratorio, siamo ben lungi dall'aver dimostrato una protezione efficace contro l'infezione in condizioni naturali. Anche se un ciclo di vaccinazioni potesse realmente potenziare l'immunità, considerazioni economiche potrebbero rendere improponibile un simile approccio nei paesi in via di sviluppo, dove oggi l'HIV si sta diffondendo con la maggiore rapidità.

Si sono ottenuti alcuni risultati brillanti. Ronald C. Desrosiers della Harvard University e colleghi sono riusciti a realizzare un vaccino che protegge le scimmie rhesus dall'infezione da SIV. Desrosiers ha utilizzato come vaccino un ceppo vitale di SIV in cui il gene *nef* era stato disattivato artificialmente. Il virus risultante produce un'infezione persistente a basso livello che stimola una forte risposta immunitaria, ma non provoca disturbi. Anche se forse sarà possibile fare qualcosa di simile con l'HIV, i problemi di sicurezza relativi all'uso di un vaccino contenente HIV attenuato, ma vivo, sono immensi.

Soluzioni ancora più audaci potrebbero trovare applicazione nella cura dell'infezione da HIV. Un'idea è stata proposta da David Baltimore della Rockefeller University, che venne insignito del premio Nobel nel 1975 per aver scoperto la trascrittasi inversa. Baltimore propone di introdurre nei linfociti *T* di una persona infettata un gene che potrebbe rendere le cellule resistenti all'infezione da HIV. Questo metodo, una forma di terapia genica che Baltimore definisce «immunizzazione intracellulare», potrebbe essere fattibile con la tecnologia del prossimo secolo; anzi, alcuni geni mutanti dell'HIV che conferiscono immunità ai linfociti *T* in coltura sono già stati identificati.

Per ora non disponiamo di sistemi per il trasporto e l'espressione di geni che possano rendere queste tecniche largamente applicabili. Se si riuscisse a mettere a punto un sistema di trasporto genico inoculabile, il metodo si rivelerebbe pratico ed economico anche per i paesi in via di sviluppo; a mio parere, è una linea di ricerca che merita attenzione.

Frattanto c'è ancora molto da imparare sull'HIV. Al momento attuale sarebbe necessario raddoppiare gli sforzi per informare il pubblico sul virus: in ultima analisi, prevenire la trasmissione dell'HIV è la migliore strategia.

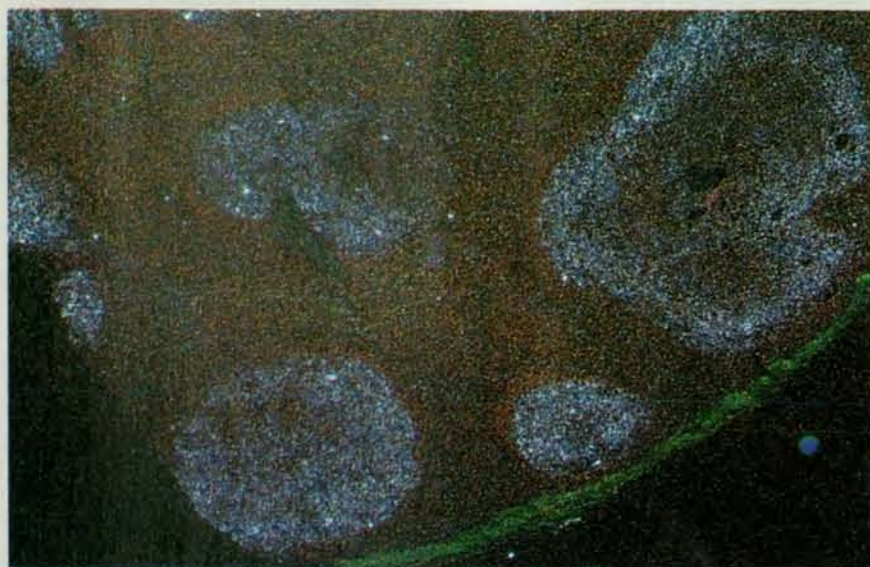
BIBLIOGRAFIA

GREENE WARNER C., *The Molecular Biology of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection* in «New England Journal of Medicine», 324, n. 5, 31 gennaio 1991.

FEINBERG MARK B. e GREENE WARNER C., *Molecular Insights into Human Immunodeficiency Virus Type-1 Pathogenesis* in «Current Opinion in Immunology», 4, n. 4, agosto 1992.

PANTALEO GIUSEPPE e altri, *HIV Infection Is Active and Progressive in Lymphoid Tissue during the Clinically Latent Stage of Disease* in «Nature», 362, n. 6418, 25 marzo 1993.

WEISS ROBIN A., *How Does HIV Cause AIDS?* in «Science», 260, 28 maggio 1993.

HAYNES B. F., *Scientific and Social Issues of Human Immunodeficiency Virus Vaccine Development* in «Science», 260, 28 maggio 1993.

Le malattie autoimmuni

Attacchi immunitari diretti erroneamente contro i tessuti dell'organismo possono provocare sclerosi multipla, diabete e altre malattie croniche contro le quali si stanno sperimentando terapie nuove e promettenti

di Lawrence Steinman

Normalmente il sistema immunitario riesce a distinguere chi deve e chi non deve attaccare: ignora le componenti dell'organismo, ma aggredisce gli invasori estranei. Purtroppo le armi immunologiche, come quelle militari, possono a volte ritorcersi contro gli alleati, causando malattie gravi e persino letali.

Le malattie autoimmuni possono colpire qualunque sistema di organi, anche se alcuni sono interessati più frequentemente di altri: la sostanza bianca del cervello e del midollo spinale nella sclerosi multipla; il rivestimento articolare nell'artrite reumatoide; le cellule secernenti insulina nel diabete mellito giovanile. Altre forme di malattia autoimmune distruggono le connessioni neuromuscolari nella miastenia grave, stimolano la tiroide a produrre quantità eccessive di ormone tiroideo nel morbo di Basedow, causano lesioni cutanee nel pemfigo volgare e provocano le lesioni dei reni, dei vasi sanguigni, del tessuto connettivo e della cute che sono caratteristiche del lupus eritematoso sistemico.

Il cinque per cento degli adulti in Europa e nel Nord America - due terzi dei quali sono donne - soffre di una malattia autoimmune, e in molti casi di più di una. La popolazione affetta potrebbe rivelarsi assai più numerosa se, come suppongono alcuni studiosi, l'autoimmunità avesse un importante ruolo secondario nell'aterosclerosi, la patologia responsabile di metà dei decessi nel mondo occidentale. Tuttavia, se ciò fosse vero, potrebbe paradossalmente essere una buona notizia, in quanto la scienza sta facendo passi da gigante nella comprensione dell'autoimmunità.

Kim Kent è affetta da sclerosi multipla, una malattia in cui il sistema immunitario attacca la sostanza bianca del sistema nervoso centrale. Una tipica lesione appare in un'immagine del cervello di Kim ottenuta per risonanza magnetica (*in alto*). Dopo il trattamento con un anticorpo contro la CD4 - una molecola presente sui linfociti *T* che dirige l'attacco - la lesione è regredita (*in basso*).

Nel 1992 alcune prove cliniche hanno dato risultati promettenti per tre trattamenti sperimentali della sclerosi multipla. La somministrazione orale di mielina ha indotto tolleranza per le proteine della mielina, e sia un anticorpo monoclonale ottenuto per ingegneria genetica sia una sostanza naturale - l'interferone beta - hanno interrotto il processo infiammatorio, impedendo recidive e quindi rallentando la progressione della malattia. Piccole quantità di insulina, somministrate allo stesso scopo, hanno almeno ritardato, e in qualche caso forse impedito, l'insorgere del diabete in bambini ad alto rischio per questa malattia. Tutte queste scoperte fanno sperare che i progressi nel trattamento di una malattia autoimmune potranno dare buoni frutti anche nei confronti di tutte le altre.

La storia di una delle mie pazienti, Kim Kent, rivela molti aspetti delle malattie autoimmuni. Kim ha 26 anni, lavora in un'agenzia di viaggi californiana ed è affetta da sclerosi multipla, una grave malattia che nei soli Stati Uniti colpisce 250 000 persone. Notò i primi sintomi cinque anni fa, avvertendo formicolii alle gambe e dolori alle braccia. Le venne diagnosticata la sclerosi multipla quando un esame con la risonanza magnetica rivelò danni alla sostanza bianca, che contiene le fibre nervose che portano informazioni da e per il cervello. Un anno dopo ebbe un singolo episodio di diplopia (doppia visione) della durata di circa una settimana e l'anno successivo cominciò ad avere problemi di equilibrio nella deambulazione; iniziò così a usare il bastone, soprattutto quando era stanca. Oggi i suoi principali problemi sono la mancanza di equilibrio, i formicolii alle gambe e la debolezza della mano destra, che le crea difficoltà nello scrivere.

Nel 1991 Kim cominciò a partecipare alla sperimentazione di un farmaco che elimina un agente fondamentale della risposta autoimmune. Nel primo mese ricevette tre infusioni endovenose di un anticorpo prodotto per ingegneria genetica e diretto contro la CD4, una molecola presente su certi linfociti *T*; da allora si sottopone alla terapia ogni quattro mesi. Come risultato, si è notata una riduzione dei linfociti *T* CD4 ben al di sotto del livello normale, ma le altre componenti del sistema immunitario continuano a funzionare normalmente e Kim non è stata colpita da alcuna infezione. I sintomi sono rimasti stabili, con transitori recuperi della mano destra e occasionali periodi di miglioramento della deambulazione. Ora usa il bastone solo quando esce di casa. I più recenti esami con la risonanza magnetica mostrano progressi generalizzati, con una notevole regressione di molte lesioni e chiari segni di rigenerazione della sostanza bianca (*si vedano i riquadri nell'illustrazione della pagina a fronte*). Tuttavia sono apparse alcune nuove lesioni.

Come accade nella maggior parte delle malattie autoimmuni, anche per la sclerosi multipla vi sono prove di una predisposizione genetica: studi su gemelli omozigoti dimostrano che, quando un gemello è colpito dalla patologia, l'altro ha una probabilità di circa il 30 per cento di contrarla. La sclerosi multipla si presenta di solito all'inizio dell'età adulta, spesso qualche settimana dopo una malattia ordinaria; tende anche a scatenarsi dopo una gravidanza. In circa metà dei pazienti, periodi di remissione si alternano a episodi acuti di peggioramento; negli altri casi la malattia progredisce con regolarità.

Finalmente cominciamo ad avere le idee chiare sulle cause della sclerosi multipla. In alcuni casi le cellule che reagiscono contro il «sé», o autoreattive, invece di essere eliminate o rese silenti nel timo durante lo sviluppo, sfuggono al controllo e si diffondono nel resto del-

l'organismo. Il timo può fallire nel suo compito perché non entra in contatto con una quantità sufficiente di autoantigeni, in particolare di proteine che sono di solito sequestrate in un certo organo, come il cervello. Esiste anche la possibilità che la risposta autoimmune possa essere scatenata da microrganismi che imitano la struttura di autoantigeni, soprattutto se questi antigeni non sono stati presentati al timo durante lo sviluppo.

I linfociti autoreattivi che vengono così prodotti migrano dal timo, dai linfonodi e dalla milza ed entrano nel circolo ematico; giungono così nei vari organi dove liberano sostanze chimiche che danneggiano specifici tessuti. La conoscenza di questo processo ha già indicato parecchi modi attraverso i quali le cellule distruttive possono essere eliminate o rese silenti.

Si è a lungo ipotizzato che l'autoimmunità potesse provocare la sclerosi multipla, ma la prova definitiva è giunta soltanto nel 1982, quando Cedric S. Raine e colleghi dell'Albert Einstein College of Medicine di New York trovarono cellule immunitarie nella sostanza bianca di alcuni pazienti. Essi osservarono una fenomenologia indistinguibile da una semplice infiammazione: la maggior parte delle cellule immunitarie era costituita da linfociti *T*, derivati dal timo; alcuni erano linfociti *B*, derivati dal midollo osseo, e il resto era rappresentato da cellule «spazzine», i macrofagi. Ciascun tipo di cellula svolge un ruolo specifico nel distruggere la guaina mielinica che isola le fibre nervose e dà loro la colorazione bianca. Si è visto inoltre che i linfociti *T* e *B* esercitano la loro azione distruttiva con mezzi differenti.

Immediatamente si sono presentate due domande: che cosa facevano queste cellule nella sostanza bianca, e come avevano potuto superare la barriera ematoencefalica, che di norma impedisce il passaggio agli agenti del sistema immunitario? (Si veda l'articolo *Infezioni batteriche e barriera ematoencefalica* di Elaine Tuomanen in «Le Scienze» n. 296, aprile 1993.) Per rispondere alla prima domanda, si sono studiate a fondo le cellule *B* e *T*, e in particolare i recettori con i quali esse riconoscono gli antigeni.

L'analisi dei recettori per gli antigeni sui linfociti *B* ha rivelato che il liquido spinale dei pazienti affetti da sclerosi multipla ha un contenuto di anticorpi superiore al normale. La maggior parte degli anticorpi è stata prodotta solo da alcuni cloni di cellule *B*. All'inizio degli anni ottanta Claude C. A. Bernard e colleghi della La Trobe University, in Australia, dimostrarono che alcuni degli anticorpi innescavano la distruzione del principale costituente della guaina mielinica: la proteina basica della mielina.

Gli anticorpi prodotti dai linfociti *B* non attaccano la proteina stessa, ma le cellule oligodendrogliali nelle quali è sintetizzata. Il processo comincia quando gli anticorpi si combinano con gli enzimi ematici del sistema complemento e formano quelli che sono chiamati «complessi di attacco». D. Alistair S. Compston e collaboratori dell'Università di Cambridge hanno trovato complessi formati da cinque elementi del complemento nel liquido cerebrospinale di pazienti affetti da sclerosi multipla. I complessi si legano specificamente alle membrane delle cellule oligodendrogliali, dove interferiscono con il trasporto verso l'esterno di ioni calcio, e così facendo distruggono le cellule.

La funzione dei linfociti *T* è stata più difficile da chiarire perché, al contrario degli anticorpi, essi riconoscono un bersaglio - un peptide, o frammento proteico - solo quando è legato in una «tasca» strategica di una delle proteine denominate HLA (l'MHC dell'uomo). (Queste proteine si trovano sulla membrana cellulare e presentano antigeni ai linfociti *T* per la stessa ragione per cui i soldati danno la parola d'ordine: evitare di essere trattati come un nemico.) La difficoltà deriva dal fatto che le molecole HLA non vengono di norma espresse apprezzabilmente nel sistema nervoso. Nella sclerosi multipla, tuttavia, la loro produzione viene indotta nella sostanza bianca da una citochina, l'interferone gamma, uno dei segnali chimici con cui le cellule del sistema immunitario comunicano tra di loro.

Questa connessione è stata scoperta per caso, mentre si sperimentava l'interferone gamma come terapia per la sclerosi multipla. Invece di dare beneficio, la sostanza peggiorava la situazione causando parestesie ricorrenti, e la sperimentazione clinica venne sospesa. Tuttavia i risultati furono illuminanti. Essi dimostrarono che un'infezione virale e altri stress possono aggravare la sclerosi multipla stimolando la secrezione cerebrale di interferone gamma. Le molecole HLA appaiono allora nelle cellule cerebrali, dove di norma non sono espresse.

I macrofagi attaccano direttamente la mielina (*a sinistra*) e presentano frammenti della proteina per farli riconoscere dai linfociti *T*. Questi attaccano a distanza secernendo citochine, come il fattore di necrosi tumorale. Inoltre inducono i linfociti *B* a produrre anticorpi che distruggono le cellule oligodendrogliali, le quali normalmente rigenerano la mielina. La demielinizzazione che ne risulta (*al centro*) può essere riparata con il trapianto di nuove cellule oligodendrogliali (*a destra*).

I linfociti *T* riconoscono gli antigeni estranei quando sono presentati dalle molecole HLA del sistema immunitario. In alcuni individui, soprattutto in coloro che hanno certi tipi HLA, antigeni prodotti dall'organismo possono essere simili a un antigene estraneo. Questo mimetismo fa sì che i linfociti *T* attacchino i tessuti che contengono gli autoantigeni.

Nel 1983 Gian Franco Bottazzo della Middlesex Hospital Medical School e Marc Feldmann dell'University College di Londra documentarono questo processo per il cervello, nella sclerosi multipla, per il rivestimento articolare, nell'artrite reumatoide e per il pancreas, nel diabete giovanile. L'espressione aberrante di molecole HLA spiegava perché l'interferone gamma aggravasse la sclerosi multipla e forniva una giustificazione per terapie sperimentali basate su agenti in grado di bloccare l'espressione di HLA nei siti di malattia autoimmune.

Prima di poter progettare queste terapie occorreva identificare il bersaglio dell'attacco dei linfociti *T* nella sostanza bianca, ricavando la struttura del recettore dei linfociti *T* dalla sequenza di geni che la codifica. Al contrario di altri geni, però, quelli per il recettore dei linfociti *T* subiscono un riarrangiamento rispetto all'ordine ereditato sui cromosomi. Bisogna quindi estrarre e analizzare i geni da singoli linfociti *T*, un compito impossibile fino a metà degli anni ottanta, quando Kary B. Mullis della Cetus Corporation (ora Roche Molecular Systems) scoprì una tecnica di amplificazione genica, la reazione a catena della polimerasi, per la quale ha ricevuto il premio Nobel per la chimica 1993 (si veda il suo articolo *La scoperta della reazione a catena della polimerasi* in «Le Scienze» n. 262, giugno 1990).

Questa tecnica è stata ampiamente sfruttata da Jorge R. Oksenberg, Michael A. Panzara, Claude Bernard e me della Stanford University School of Medicine e da Ann B. Begovich e Henry A. Erlich della Cetus. Dal 1989 al 1992 analizzammo l'RNA di linfociti presenti nel sito di infiammazione cerebrale di pazienti affetti da sclerosi multipla. Tramite sequenziamento di un cospicuo insieme di recettori dei linfociti *T*, riuscimmo a trovare il bersaglio dei recettori: il complesso antigenico che si forma quando un particolare frammento della proteina basica della mielina si lega a una parte specifica del recettore HLA, vale a dire la sua molecola DR2. Trovammo anche una sequenza di tre amminoacidi del recettore che sembrava legarsi al complesso antigenico.

Ricerche indipendenti condotte nello stesso tempo da Daniel P. Gold del San Diego Regional Cancer Center e da Halina Offner-Vandenbark e Arthur A. Vandenbark dell'Oregon Health Sciences University School of Medicine permisero un altro passo avanti fondamentale. Questi ricercatori individuarono lo stesso gene riarrangiato per il recettore dei linfociti *T*, lo stesso terzetto di amminoacidi nel sito di legame e lo stesso frammento di proteina basica della mielina in un modello animale della sclerosi multipla, l'encefalomielite allergica sperimentale (EAE). Questi risultati erano significativi perché dimostravano la validità del modello sperimentale, che viene indotto autoimmunizzando animali di laboratorio contro la proteina basica della mielina e produce gli stessi sintomi clinici della sclerosi multipla: paralisi e demielinizzazione. Il modello può quindi servire per collaudare terapie per la sclerosi multipla dell'uomo.

Che cosa fa rivolgere i linfociti *T* contro il sé? Dato che un'infezione precede spesso l'insorgere di una malattia autoimmune, gli scienziati hanno esaminato attentamente le tattiche più comuni che gli agenti patogeni impiegano per eludere i linfociti *T*. La risposta sembra essere il mimetismo molecolare, un adattamento evolutivo grazie al quale virus e batteri tentano di ingannare l'organismo per ottenere libero accesso. Il mimetismo consiste nel mostrare al sistema immunitario sequenze di amminoacidi che sembrano appartenere al sé. Per esempio, l'adenovirus di tipo 2 ha sequenze amminoacidiche simili a quelle del frammento critico della proteina basica della mielina. Con la normale risposta a questo virus il sistema immunitario può quindi predisporsi ad attaccare la corrispondente componente del sé, la mielina.

La risposta autoimmunitaria può venire avviata anche se il mimetismo molecolare non è perfetto. Anand Gautam e Hugh O. McDevitt della Stanford University sono riusciti a indurre paralisi nei topi esponendoli a una breve sequenza di 10 amminoacidi, solo cinque dei quali erano identici a quelli della proteina basica della mielina. Robert S. Fujinami e Michael B. A. Oldstone dello Scripps Research Institute hanno dimostrato che la polimerasi del virus dell'epatite B ha una sequenza di soli sei amminoacidi in comune con una parte della molecola della proteina basica della mielina che causa EAE nel coniglio. In seguito all'immunizzazione con questa parte del virus, gli animali hanno presentato infiammazione cerebrale.

Queste ricerche indicano che la somiglianza molecolare fra virus o batteri e componenti del sé può essere fondamentale nel dare inizio a risposte autoimmunitarie. I danni alle valvole cardiache prodotti dalla febbre reumatica possono essere una conseguenza della reazione crociata fra la miosina e una componente della proteina M della parete cellulare

Come progredisce la sclerosi multipla

La demielinizzazione dei neuroni che si verifica nella sclerosi multipla è il risultato di una complessa catena di interazioni cellulari. Le possibili strategie di intervento nelle varie fasi della malattia sono descritte in rosso.

dei batteri streptococcici emolitici. L'infiammazione delle articolazioni nei roditori può essere indotta per immunizzazione con *Mycobacterium tuberculosis*. Questa patologia è simile all'artrite reumatoide e può essere dovuta a somiglianze strutturali fra una proteina della cartilagine e una del micobatterio.

Ovviamente non tutti coloro che reagiscono all'adenovirus di tipo 2 manifestano una risposta immunitaria alla proteina basica della mielina e sviluppano la sclerosi multipla. Questo comportamento sembra in gran parte dovuto alla variabilità individuale dei tipi molecolari HLA, il cui ruolo consiste nel determinare esattamente quali frammenti di un agente patogeno vengano esposti alla superficie cellulare e presentati ai linfociti *T*. La struttura HLA di un individuo può legarsi a un frammento che imita il sé e presentarlo al sistema immunitario, mentre quella di un altro individuo può legarsi a un frammento che si trova soltanto sull'agente patogeno e non imita il sé. In quest'ultimo caso l'agente patogeno viene correttamente attaccato, senza che vi sia violazione dell'autotolleranza.

Gli individui portatori di HLA-DR4 hanno una probabilità sei volte maggiore degli altri di manifestare artrite reumatoide; quelli con HLA-DR2 hanno una probabilità quattro volte maggiore di ereditare la sclerosi multipla rispetto ai non portatori. Il diabete mellito giovanile colpisce lo 0,2 per cento della popolazione statunitense, ma è circa 20 volte più comune in quegli individui di razza bianca che hanno geni per la sintesi di HLA-DR3 e HLA-DR4.

Tuttavia, come accade per tutte le malattie autoimmuni, i geni da soli non possono causare la patologia. Il cinque per cento di coloro che sono affetti da diabete giovanile manca di questi geni, mentre il cinque per cento della popolazione sana li possiede entrambi. Anche i fratelli gemelli di persone affette hanno solo una probabilità del 50 per cento di essere colpiti dal diabete. Il lupus eritematoso sistemico è stato anch'esso associato a certi tipi HLA, sebbene in questo caso la concordanza nei gemelli sia solo del 25 per cento. Alcuni tipi HLA predispongono a più malattie autoimmuni, il che spiega perché coloro che sono affetti da miastenia grave abbiano, per esempio, una probabilità del 30 per cento di essere colpiti anche dal morbo di Basedow.

Alcuni geni possono anche conferire protezione dalle malattie autoimmuni. Nel 1987 John I. Bell, John A. Todd e McDevitt di Stanford osservarono che la resistenza al diabete giovanile è correlata alla presenza di un amminoacido, l'aspartato, nella posizione 57 della catena beta HLA-DQ, una delle due strutture della proteina HLA. Erlich della Cetus ha fatto indipendentemente la stessa scoperta. È interessante il fatto che nei giapponesi, la maggioranza dei quali ha proprio questo carattere HLA, l'incidenza del diabete giovanile sia solo il cinque per cento di quella osservata negli Stati Uniti. Invece le catene beta HLA-DQ contenenti serina, alanina o valina in posizione 57 sono associate a un alto rischio di diabete giovanile. Queste correlazioni fra HLA e malattia sono in parte conseguenza del fatto che una certa molecola HLA possa o meno presentare un frammento di un agente patogeno che imita un costituente del sé.

L'autoimmunità, comunque inizi, deve consistere in qualcosa di più del semplice reclutamento di un esercito di linfociti *T*: le cellule devono anche passare dal timo e dalla milza nel circolo ematico, e da qui nell'organo bersaglio. Tre categorie di molecole sono coinvolte in questo complesso itinerario. Il movimento attraverso la parete dei vasi sanguigni sembra avvenire allo stesso modo nelle malattie autoimmuni e nella normale risposta infiammatoria a un'infezione. Il processo di guida sul bersaglio è mediato da membri della famiglia supergenica delle immunoglobuline e dai recettori CD4 e CD8 dei linfociti *T* (si veda l'articolo *Come il sistema immunitario riconosce gli invasori* di Charles A. Janeway, Jr., a pagina 40).

Ecco come funziona il processo. Una volta arrivati al bersaglio, i leucociti - soprattutto linfociti *T* - si insediano con l'aiuto di molecole di adesione intracellulari, le integrine. Queste molecole, che si trovano sui linfociti *T*, portano recettori che possono essere paragonati a strisce di Velcro; la seconda metà dell'«adesivo» è costituita da controrecettori appartenenti alla famiglia supergenica delle immunoglobuline. I controrecettori emergono dal rivestimento endoteliale dei vasi sanguigni nei punti che sono stati esposti a citochine come l'interferone gamma e il fattore di necrosi tumorale.

Queste citochine sono prodotte sul posto da linfociti *T* e macrofagi attivati. Pertanto quando un linfocita *T* percorre un vaso sanguigno e incontra un controrecettore, vi aderisce. Il processo di adesione fa sì che la cellula *T* secerna proteasi, enzimi che favoriscono la creazione di un'apertura nel vaso e permettono al linfocita di irrigidire il proprio citoscheletro per poterla attraversare. In questo modo i linfociti possono perforare la barriera ematoencefalica e causare la sclerosi multipla, penetrare nel rivestimento sinoviale e dare origine all'artrite reumatoide, e così via per tutte le altre malattie autoimmuni.

L'opera di distruzione inizia quando un linfocita *T* incontra il proprio antigene nell'incavo di legame di una molecola HLA e libera proteine e peptidi, tra cui l'interferone gamma, il fattore di necrosi tumorale e un suo analogo chimico chiamato linfotossina. Queste sostanze sono state identificate come la causa immediata della demielinizzazione. I macrofagi accelerano allora il processo, in parte secernendo fattore di necrosi tumorale e in parte organizzando un attacco diretto. John Prineas della University of Medicine and Dentistry of New Jersey e Raine hanno dimostrato che i macrofagi asportano addirittura frammenti di mielina dalla guaina che riveste gli assoni delle cellule nervose.

Si può supporre che, una volta avviata, una malattia autoimmune proceda senza interruzioni. Tuttavia, nella sclerosi multipla, nell'artrite reumatoide, nel lupus eritematoso sistemico e nella miastenia grave, periodi di deterioramento si alternano di solito con altri di remissione. Si è dimostrato che in tutte queste malattie l'andamento è fortemente correlato a tre fattori ambientali: ormoni femminili, infezioni e stress.

Si è notato da lungo tempo che le malattie autoimmuni sono in genere più gravi nelle donne che negli uomini. Di recente, Howard S. Fox dello Scripps Institute ha proposto una spiegazione dimostrando che un ormone femminile, l'estrogeno, attiva una sequenza di DNA che stimola geni vicini, i quali a loro volta trascrivono interferone gamma. L'estrogeno promuove così la produzione di interferone gamma che, come abbiamo visto, contribuisce a indurre il processo autoimmunitario.

I microrganismi non possono ovviamente aggravare una malattia autoimmune già esistente nello stesso modo in cui la inducono; il mimetismo molecolare non fa sì che l'organismo diventi più sensibile di quanto non sia già a una delle proprie componenti. Responsabile deve essere qualche altra funzione microbica, la cui natura è stata indicata da uno studio dell'EAE eseguito da Stefan Brocke e colleghi a Stanford. Somministrando enterotossina B stafilococcica a topi che si erano ripresi dalla paralisi indotta da EAE, i ricercatori ottennero una ricaduta entro 48 ore. L'enterotossina B stafilococcica appartiene alla classe di sostanze chiamate superantigeni, i quali hanno la proprietà di attivare linfociti *T* che altrimenti reagirebbero solo ad antigeni specifici e differenti.

Dato che riattivano i linfociti *T* «traditori», i superantigeni intensificano fortemente l'infiammazione; il loro effetto ad ampio spettro è dovuto al fatto che essi si legano al recettore del linfocita *T* in un punto posto al di fuori del sito altamente specifico che riconosce l'antigene (si veda l'articolo *Superantigeni e malattie dell'uomo* di Howard M. Johnson, Jeffry K. Russell e Carol H. Pontzer in «Le Scienze» n. 286, giugno 1992).

Ovviamente solo quei linfociti *T* che sono predisposti per un autoantigene troveranno la strada verso il bersaglio. Brian L. Kotzin e Philippa Marrack del

National Jewish Center for Immunology and Respiratory Medicine di Denver hanno dimostrato, per esempio, che certi linfociti *T* dotati di uno specifico recettore sono concentrati nel liquido sinoviale di pazienti affetti da artrite reumatoide. Questa concentrazione è rispecchiata da un corrispondente depauperamento degli stessi linfociti nel sangue. Kotzin e la Marrack hanno proposto che questi linfociti *T* autoimmunitari fossero attivati da superantigeni, e quindi attaccassero il rivestimento articolare e poi proliferassero nel liquido sinoviale, dove erano selezionati da un antigene specifico non ancora determinato.

Uno stress - come una infezione o un trauma - può aggravare una malattia autoimmune influendo sull'ipotalamo e sull'ipofisi, i quali a loro volta secernono ormoni che promuovono l'infiammazione. Anche le fibre nervose possono avere un ruolo nell'insorgenza della malattia in quanto agiscono direttamente sulle ghiandole linfatiche e sulle cellule immunitarie presenti negli organi.

L'infiammazione stimola la liberazione di citochine, che raggiungono l'ipotalamo e l'ipofisi e inducono la secrezione del fattore di liberazione della corticotropina. Questo neuropeptide ha due effetti opposti: incrementa l'attività delle cellule immunitarie nel sito di infiammazione, e nello stesso tempo stimola le ghiandole surrenali a produrre glucocorticoidi, che sopprimono l'infiammazione. Si può bloccare l'effetto infiammatorio del fattore di liberazione della corticotropina usando sostanze, per esempio anticorpi, che si legano al fattore e lo neutralizzano.

Nella sclerosi multipla, specialmente durante l'infezione, citochine come il fattore di necrosi tumorale e l'interleuchina 1 possono essere prodotte nel cervello stesso dalle cellule gliali (che fanno da supporto al funzionamento dei neuroni). La loro azione può essere potenziata da altre citochine prodotte all'esterno del cervello e trasportate in esso attraverso certi punti critici della barriera ematoencefalica. (Questi effetti sono fondamentali anche nella eziologia della semplice febbre: l'infezione fa sì che i macrofagi producano interleuchina 1, la quale entra nell'ipotalamo attraverso un varco della barriera ematoencefalica nell'area preottica, e qui induce l'aumento della temperatura corporea.)

Il possibile coinvolgimento delle fibre nervose nel processo immunitario era stato ipotizzato da lungo tempo, ma solo pochi mesi fa se ne sono avute chiare prove. Richard D. Granstein e colleghi del Massachusetts General Hospital sono riusciti a dimostrare che le cellule nervose possono liberare certi neuropeptidi nella cute, influenzando così l'efficacia della risposta immunitaria locale. Questa regolazione locale può avere un ruolo nella psoriasi, una tipica malattia autoimmune che si aggrava quando il paziente è ansioso.

Finora le ricerche si sono concentrate sulle vie ormonali che correlano lo stress alle risposte autoimmunitarie. Di recente Ronald L. Wilder, George P. Chrousos e colleghi dei National Institutes of Health hanno dimostrato che il fattore di liberazione della corticotropina è presente nel liquido sinoviale e nei tessuti di pazienti affetti da artrite reumatoide. Hanno anche fatto osservare che gli animali che non secernono quantità sufficienti di fattore di liberazione della corticotropina in risposta allo stress sono molto suscettibili all'artrite indotta sperimentalmente. Gabriel S. Panayi della Guy's Hospital Medical School dell'Università di Londra ha notato la stessa caratteristica in pazienti affetti da artrite reumatoide. Queste scoperte possono offrire una spiegazione alla ben nota osservazione clinica che l'ansia può aggravare una malattia autoimmune.

Se la paura può produrre una ricaduta di una malattia autoimmune, allora anche il timore di una ricaduta può avere lo stesso effetto e creare così un circolo vizioso. In effetti l'incertezza del futuro è proprio il risvolto più amaro delle malattie autoimmuni. I periodi di remissione possono durare mesi o anni, la malattia può progredire lentamente, ma anche rapidamente e si possono avere o meno complicanze al di fuori del processo autoimmunitario principale. Oltre a ciò la probabilità di sviluppare un'altra patologia autoimmune è molto più elevata in chi è già affetto da una di esse.

Alcune di queste patologie secondarie non sono molto gravi, in quanto colpiscono tessuti la cui funzione può essere sostituita. Il morbo di Basedow, per esempio, può essere trattato rimuovendo la tiroide iperattiva e poi somministrando oralmente ormone tiroideo. Tuttavia la terapia corrispondente per il diabete giovanile - iniezioni di insulina - pone qualche problema. La somministrazione per iniezione del farmaco non può riprodurre la secrezione accuratamente regolata delle cellule beta, che controlla il metabolismo del glucosio con straordinaria sensibilità. La concentrazione di glucosio nel sangue subisce quindi eccessive fluttuazioni, esponendo il diabetico a un rischio elevato di complicanze cardiovascolari. (Nel giugno 1993 uno studio a lungo termine finanziato dal National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases ha concluso che i pazienti possono prevenire o ritardare le complicanze con frequenti analisi del sangue e appropriati aggiustamenti nella dieta, nell'esercizio fisico e nel dosaggio di insulina.)

Non esiste alcun sostituto, tuttavia, per il tessuto attaccato nella miastenia grave: la giunzione neuromuscolare e il relativo recettore dell'acetilcolina. Gli anticorpi aggrediscono la giunzione causando debolezza e paralisi. La tolleranza al recettore dell'acetilcolina viene meno nel timo, dove il recettore è espresso. In circa metà dei pazienti la ghiandola si ingrossa ed è pratica comune rimuoverla, un procedimento che può attenuare i sintomi della malattia, soprattutto nei soggetti giovani.

Il caratteristico arrossamento delle guance e del naso è un indizio che permette la diagnosi del lupus eritematoso sistemico. Questa malattia, che spesso si manifesta all'inizio dell'età adulta, può col tempo coinvolgere molti organi e apparati.

Il lupus eritematoso sistemico è forse la più devastante delle malattie autoimmuni in quanto capace di raggiungere pressoché tutti gli organi, qualche volta uno dopo l'altro e spesso senza avvisaglie. Solo negli Stati Uniti colpisce circa 250 000 individui, il 90 per cento dei quali sono donne. La malattia esordisce generalmente nei giovani adulti con un caratteristico arrossamento delle guance e del naso a forma di ali di farfalla. La caduta dei capelli è frequente, così come lo sono gravi lesioni renali, artrite, pericardite e polmonite interstiziale. In quasi metà dei pazienti vi è anche infiammazione dei vasi sanguigni cerebrali, cui talvolta seguono paralisi e convulsioni.

Perché il lupus eritematoso sistemico sia tanto multiforme rimane un mistero, anche se danni tissutali così ubiquitari indicano un decadimento generalizzato dell'autotolleranza. Recenti esperimenti indicano una spiegazione attraente. Si è visto che topi affetti da una malattia simile al lupus hanno una mutazione nel gene *Fas*, che codifica per una molecola situata sulla superficie dei timociti e dei linfociti *T* e *B* attivati. La molecola Fas normale innesca la morte programmata delle cellule immunitarie. Se questo processo è regolato in modo anomalo, linfociti *T* e *B* autoreattivi di tutti i tipi possono portare scompiglio in molti differenti sistemi di organi.

Fino a tempi recentissimi, i medici hanno dovuto combattere queste malattie armati solo di agenti immunosoppressori non specifici, come i corticosteroidi, che spesso risultano poco efficaci e talvolta sono addirittura dannosi. Negli ultimi anni, tuttavia, la nostra comprensione della patogenesi delle malattie autoimmuni ha condotto alla messa a punto di terapie altamente selettive, ciascuna delle quali interviene in un passaggio diverso del processo autoimmunitario. Queste terapie hanno fornito risultati eccellenti nei modelli animali, e per alcune di esse sono in corso sperimentazioni cliniche; anzi, alcuni nuovi farmaci sono in attesa di approvazione.

Se le molecole HLA nella sostanza bianca sono associate ad attacchi di sclerosi multipla, allora è ragionevole bloccarne l'espressione. L'interferone beta ha questo effetto bloccante, mentre l'interferone gamma favorisce l'espressione. Di recente un'ampia sperimentazione clinica sull'interferone beta è stata organizzata da scienziati operanti in due società di biotecnologia, la Chiron Corporation e la Berlex Biosciences. L'interferone ha diminuito il numero di episodi acuti del 30 per cento e ha addirittura ridotto le aree di infiammazione nella sostanza bianca. In marzo un comitato di consulenza della Food and Drug Administration ha raccomandato il farmaco, un passo che generalmente precede l'approvazione.

Dove colpisce l'autoimmunità

MALATTIA	BERSAGLIO
Malattia di Addison	Surrene
Anemia emolitica autoimmune	Proteine di membrana dei globuli rossi
Malattia di Crohn	Intestino
Sindrome di Goodpasture	Rene e polmoni
Morbo di Basedow	Tiroide
Tiroidite di Hashimoto	Tiroide
Porpora trombocitopenica idiopatica	Piastrine
Diabete mellito insulino-dipendente	Cellule beta del pancreas
Sclerosi multipla	Cervello e midollo spinale
Miastenia grave	Sinapsi neuromuscolari
Pemfigo volgare	Cute
Anemia perniciosa	Cellule della parete gastrica
Glomerulonefrite poststreptococcica	Rene
Psoriasi	Cute
Artrite reumatoide	Tessuto connettivo
Sclerodermia	Cuore, polmoni, intestino, rene
Sindrome di Sjøgren	Fegato, rene, cervello, tiroide, ghiandole salivari
Sterilità spontanea	Sperma
Lupus eritematoso sistemico	DNA, piastrine, altri tessuti

Altre strategie dirette a bloccare le molecole HLA che presentano antigeni sensibili al sé potrebbero essere ancora più dirette e potenti. Nel modello animale della sclerosi multipla, molecole simili ad HLA-DR presentano frammenti di proteina basica della mielina ai linfociti *T*, che poi attaccano il sistema nervoso centrale. McDevitt, io e altri abbiamo dimostrato che è possibile sintetizzare analoghi della mielina che si legano alle molecole HLA con maggiore affinità della mielina naturale, e tuttavia non sono immunogeni. Bloccando tutte le molecole HLA, gli analoghi fungono da diversivo molecolare che previene l'EAE e provoca addirittura la scomparsa della paralisi che le è associata.

Incoraggiati da questi risultati, i miei colleghi della Neurocrine Biosciences (di cui dirigo la ricerca) stanno progettando diversivi molecolari che possano entrare nell'incavo dell'HLA e che disattivino specificamente i linfociti *T* che distruggono la mielina. La Neurocrine Biosciences detiene il brevetto di questa tecnologia e la sta mettendo a punto, con la mia assistenza, per applicazioni cliniche. Ci sono buoni motivi per ritenere che questa strategia sia applicabile a tutte le malattie autoimmuni. Michael Sela e Ruth Arnon e colleghi del Weizmann Institute of Science in Israele hanno sintetizzato un copolimero simile alla proteina basica della mielina che si lega all'HLA-DR2 e riduce l'incidenza di recidive nella sclerosi multipla.

Un altro metodo è quello di combattere una delle principali armi chimiche dei linfociti *T*: il fattore di necrosi tumorale. Feldmann, R. Tini Miani e collaboratori del Kennedy Institute for Rheumatology di Londra e della Centocor Corporation lo hanno applicato in una sperimentazione pilota. Essi hanno prodotto un anticorpo monoclonale che si lega al fattore di necrosi tumorale e hanno dimostrato che può eliminare dal circolo questa citochina. Una singola dose sopprime la risposta autoimmunitaria per 5-10 settimane senza abbassare la risposta immunitaria generale alle infezioni. L'efficacia di questo trattamento è uguagliata solo dalla sua notevole specificità.

Il trattamento con questo anticorpo ha aumentato la mobilità delle articolazioni e ridotto l'irrigidimento associato all'artrite reumatoide. Si prevede di impiegare questa strategia anche nel trattamento della sclerosi multipla, nella quale il fattore di necrosi tumorale è implicato come agente distruttivo nei siti colpiti della sostanza bianca.

Un'ulteriore tattica è quella di «distrarre» i linfociti dai loro bersagli. Ted A. Yednock della Athena Neurosciences, Nati Karin di Stanford e io siamo riusciti a prevenire lo sviluppo di EAE nei ratti somministrando un anticorpo monoclonale diretto contro VLA-4, una delle protrusioni adesive del linfocita *T*. Un linfocita così trattato non può legarsi ai recettori corrispondenti sulla parete dei vasi sanguigni; procede quindi oltre il suo punto di arrivo senza nemmeno tentare di superare la barriera ematoencefalica. Non solo i ratti sono stati pro-

tetti dalla paralisi grazie a questo trattamento, ma nel loro cervello non era presente alcun segno di infiammazione.

Questo metodo verrà presto applicato alla sclerosi multipla. Abbiamo già adattato la molecola anti-VLA-4 sostituendo componenti umane a quelle parti che ne identificano l'origine animale. Un approccio analogo è stato seguito per un modello animale dell'artrite reumatoide da Ko Okumura e colleghi della Juntendo University School of Medicine di Tokyo. Essi hanno bloccato la migrazione dei linfociti nelle articolazioni con un anticorpo diretto contro ICAM-1, una molecola che permette alla cellula di aderire alla parete dei vasi sanguigni. Anche in questo caso gli anticorpi anti-ICAM-1 sono ora sottoposti a sperimentazioni precliniche per l'impiego in soggetti umani.

Un metodo particolarmente ingegnoso è stato seguito da Caroline C. Whitacre della Ohio State University e Howard L. Weiner della Harvard University. Essi hanno dimostrato che semplicemente alimentando con proteina basica della mielina animali affetti da EAE si poteva prevenire o eliminare la paralisi. Il modo in cui viene somministrata la proteina è importante, a quanto pare, perché l'organismo è programmato per accettare la maggior parte delle proteine ingerite come cibo e per attaccare la maggior parte di quelle che sono presentate direttamente ai tessuti (come nella puntura di un insetto o in un'iniezione sottocutanea). Questa terapia orale di tolleranza, come viene chiamata, sembra attivare linfociti *T* che secernono citochine - come il fattore di crescita trasformante beta - in grado di contrastare gli effetti nocivi dell'interferone gamma e del fattore di necrosi tumorale.

Weiner ha condotto di recente una piccola sperimentazione clinica in cui ha somministrato oralmente mielina bovina a pazienti affetti da sclerosi multipla, riducendo in modo significativo il numero di recidive negli uomini, ma non nelle donne. Questi risultati possono forse trovare una spiegazione nell'azione degli estrogeni sulla produzione di citochine.

Una tecnica più diretta per il trattamento dell'autoimmunità è tesa a eliminare specifici insiemi di linfociti *T* coinvolti nell'insorgenza della malattia. William J. Koopman e colleghi dell'Università dell'Alabama hanno trattato l'artrite reumatoide con un anticorpo monoclonale anti-CD4, che ha migliorato considerevolmente la mobilità delle articolazioni dei pazienti. Questa strategia viene anche sperimentata contro la sclerosi multipla da W. Ian McDonald e collaboratori del National Hospital for Neurology and Neurosurgery di Londra.

Il trattamento perfetto dell'autoimmunità consisterebbe nel rendere silente o eliminare solo quella parte del sistema immunitario che è autodistruttiva, lasciando il resto intatto per combattere le infezioni. Questo obiettivo potrà forse essere raggiunto più facilmente di quanto si pensasse perché vi sono indicazioni che i linfociti *T* che causano le malattie autoimmuni utilizzino un gruppo limitato di molecole recettrici. L'importanza che può avere una singola molecola è stata dimostrata con grande evidenza nel 1988 nel caso dell'EAE. In esperimenti indipendenti i miei colleghi e io a Stanford e Leroy E. Hood e collaboratori del California Institute of Technology abbiamo dimostrato che i linfociti *T* che inducono paralisi nella EAE hanno tutti il gene *V-beta 8*, che codifica per una delle componenti del recettore dell'antigene. Abbiamo così progettato un anticorpo monoclonale diretto contro il prodotto di quel gene, osservando che fa regredire la paralisi.

All'inizio degli anni ottanta Irun R. Cohen del Weizmann Institute of Science aveva dimostrato che è possibile vaccinare individui contro i loro stessi linfociti *T* «traditori» e così prevenire o anche curare l'encefalomielite autoimmune sperimentale, l'artrite sperimentale e il diabete sperimentale (si veda l'articolo *Immunità e autoimmunità* di Irun R. Cohen in «Le Scienze» n. 238, giugno 1988).

Sperimentazioni cliniche della vaccinazione contro i linfociti *T* sono state iniziate per la sclerosi multipla e l'artrite reumatoide. Nel 1989, in esperimenti separati, Steven W. Brostoff della Immune Response Corporation e i coniugi Vandenbark trattarono con successo l'EAE somministrando agli animali un peptide proveniente da una delle molecole recettrici dei linfociti *T*. Da allora i Vandenbark hanno sperimentato questa tecnica in un piccolo numero di pazienti affetti da sclerosi multipla, utilizzando un peptide presente sul recettore dei linfociti *T* che reagisce con la proteina basica della mielina. Metà dei pazienti ha mostrato una risposta immunitaria a questi recettori patogeni. Si cerca ora di stabilire se questo trattamento riesca a influire sul decorso della malattia.

Via via che si metteranno a punto terapie altamente selettive per queste malattie, gli scienziati sposteranno la loro attenzione sulla possibilità di riparare i tessuti danneggiati. È probabile che in parte questo processo si svolga spontaneamente, una volta interrotta la risposta autoimmunitaria. Moses Rodriguez e colleghi della Mayo Foundation hanno citato conferme in questo senso da un modello animale della sclerosi multipla. Quando gli animali sono stati trattati bloccando i linfociti *T* e le molecole HLA responsabili, la mielina delle regioni cerebrali colpite si è rigenerata. Terapie più aggressive potrebbero accelerare questa rigenerazione, o indurla nei casi in cui il danno è troppo vasto perché l'organismo lo ripari da sé. Quando Marc Noble e colleghi del Ludwig Institute for Cancer Research di Londra hanno trapiantato cellule oligodendrogliali nel cervello di roditori colpiti da EAE, i trapianti hanno rivestito le regioni lese con mielina neoformata (*si veda l'illustrazione a pagina 80*).

Queste ricerche potranno dare risultati ancora più cospicui di quanto si potesse prevedere perché l'autoimmunità si sta rivelando sorprendentemente diffusa; sembra infatti complicare molte patologie la cui causa primaria non ha nulla a che fare con la risposta immunitaria. Nella distrofia muscolare di Duchenne, per esempio, un gene difettoso provoca il danneggiamento di una sostanza fondamentale per la forza del muscolo, indebolendo il paziente e infine causandone la morte per collasso respiratorio, di solito fra i 20 e i 30 anni di età. Quando si scoprì che nei muscoli erano contenuti linfociti *T*, si pensò di somministrare farmaci immunosoppressori, che in effetti prolungano di 3-5 anni la capacità di camminare dei pazienti.

Dati di estremo interesse indicano una correlazione ancor più sensazionale: l'aterosclerosi, che ostruisce le arterie provocando infarto cerebrale e miocardico, potrebbe in parte essere causata dall'autoimmunità. Fra gli indizi che depongono a favore di questa ipotesi vi sono autoanticorpi legati ai depositi lipidici nelle arterie, proteine di istocompatibilità espresse in maniera aberrante, infiltrazione di macrofagi e linfociti *T* secernenti citochine. Queste citochine potrebbero indurre la proliferazione di tessuto endoteliale e della muscolatura liscia che aggrava il blocco dell'arteria. Se questa correlazione fosse reale, le terapie progettate per sopprimere i linfociti *T* «traditori» e i loro messaggeri chimici potrebbero un giorno ridurre la gravità delle malattie cardiovascolari, che sono una delle maggiori cause di morte nei paesi industrializzati.

BIBLIOGRAFIA

OLDSTONE M. B., *Molecular Mimicry and Autoimmune Disease* in «Cell», 50, n. 6, 11 settembre 1987.

WRAITH DAVID C., McDEVITT HUGH O., STEINMAN LAWRENCE e ACHA-ORBEA HANS, *T Cell Recognition as the Target for Immune Intervention in Autoimmune Disease* in «Cell», 57, n. 5, 2 giugno 1989.

SPRINGER TIMOTHY A., *Adhesion Receptors of the Immune System* in «Nature», 346, n. 6283, 2 agosto 1990.

NEPOM GERALD T. e ERLICH HENRY, *MHC Class-II Molecules and Autoimmunity* in «Annual Review of Immunology», 9, pp. 493-525, 1991.

STEINMAN LAWRENCE, *The Development of Rational Strategies for Selective Immunotherapy against Autoimmune Demyelinating Disease* in «Advances in Immunology», 49, pp. 357-379, 1991.

L'allergia e il sistema immunitario

Negli individui allergici alcune componenti del sistema immunitario reagiscono in maniera esagerata a sostanze normalmente presenti nell'ambiente, danneggiando l'organismo anche in modo molto grave

di Lawrence M. Lichtenstein

Nei paesi sviluppati la risposta allergica, che si verifica quando alcune componenti del sistema immunitario reagiscono esageratamente a una sostanza estranea di norma innocua, incide notevolmente sulle assenze per malattia e sulle spese sanitarie. Si valuta che il 20 per cento della popolazione degli Stati Uniti sia allergica a qualche sostanza. Prevalgono coloro che soffrono di rinite allergica (inclusa la febbre da fieno) o di asma e quindi starnutiscono o faticano a respirare in seguito all'inalazione di particolari pollini o di sostanze organiche e inorganiche che per altri sono del tutto innocue. Molti bambini e alcuni adulti sono allergici a certi alimenti; altri manifestano reazioni allergiche dopo l'assunzione di farmaci come la penicillina; altri ancora hanno reazioni locali o sistemiche in seguito alla puntura di insetti. In alcuni casi, gli attacchi allergici possono essere mortali. Negli Stati Uniti la sola asma ha inciso sulle spese mediche dirette nel 1990 per 3,6 miliardi di dollari, e per quasi l'uno per cento delle spese sanitarie complessive.

Per alleggerire il carico finanziario, fisiologico e psicologico dovuto a questa risposta immunitaria inappropriata, molti ricercatori, tra i quali i miei colleghi e io alla Johns Hopkins University, hanno a lungo cercato di allargare il ventaglio delle attuali opzioni terapeutiche. In questo contesto, il nostro gruppo sta cercando in particolare di chiarire i singoli meccanismi fisiopatologici attraverso i quali l'esposizione a una sostanza capace di indurre la risposta allergica, o allergene, conduce allo scatenamento di sintomi. È ormai risaputo che un buon numero di interazioni cellulari e molecolari che costituiscono la risposta allergica è spesso comune in individui diversi, indipendentemente dalle sostanze a cui i singoli reagiscono e dai sintomi che essi presentano. Molti dettagli di tali processi rimangono oscuri, ma ogni giorno si fanno passi avanti nella prevenzione e nel controllo delle allergie.

Prima di occuparci di questi progressi, sembra opportuno esaminare il problema delle allergie da un punto di vista più generale: come mai la selezione naturale ha consentito una diffusione così ampia di questa risposta anomala? Una ipotesi particolarmente convincente si basa sull'osservazione che certe caratteristiche della risposta allergica si osservano in una sola altra circostanza: quando il sistema immunitario tenta di sconfiggere un parassita. Per esempio, nella risposta sia agli allergeni sia ai parassiti l'organismo produce elevate quantità di anticorpi noti come immunoglobuline E (IgE); questo processo è molto diverso da quanto accade nella risposta immunitaria ai batteri, che coinvolge immunoglobuline di classi differenti.

Questa ipotesi fa pensare che la risposta allergica si sia evoluta per aiutare l'organismo a combattere i parassiti. Gli individui dotati di un patrimonio genetico che li rendeva capaci di scatenare una risposta immunitaria contro questi invasori avrebbero goduto di un vantaggio in termini di sopravvivenza e sarebbero sopravvissuti più a lungo dei loro simili privi di questo meccanismo di difesa. In tal modo, avrebbero avuto prole più numerosa, che a sua volta avrebbe trasmesso i geni vantaggiosi alla generazione successiva. Questo avrebbe consentito al sistema di protezione dai parassiti di diffondersi in tutta la popolazione umana. Tale prerogativa è rimasta utile nelle situazioni in cui abbondano i parassiti. Negli individui non più esposti a questi invasori, tuttavia, il sistema immunitario ha acquistato la capacità di reagire, in modo esagerato e controproducente, ad altre sostanze come i pollini delle graminacee.

Questa tesi è avvalorata dall'osservazione che le malattie allergiche sono più diffuse nei paesi sviluppati che non in quelli in via di sviluppo, poiché nei primi le misure sanitarie hanno pressoché eliminato l'esposizione ai parassiti. Tuttavia gli studi sugli animali non hanno prodotto risultati conclusivi e la domanda sul perché esista l'allergia rimane senza risposta.

La comprensione delle basi fisiologiche della reazione allergica si fonda su di una serie molto più solida di prove circostanziali. È quindi possibile delineare un quadro ragionevolmente coerente delle conoscenze attuali. Sappiamo per esempio che allergeni diversi provocano sintomi differenti in quanto scatenano il sistema immunitario in regioni diverse dell'organismo. Una risposta immunitaria anomala all'allergene nelle alte vie aeree porta alla emissione di starnuti e alla congestione nasale ossia, in altri termini, alla rinite allergica; nelle basse vie aeree causa invece spasmo bronchiale accompagnato da sintomi asmatici quali il caratteristico sibilo. Analogamente, l'attivazione del sistema immunitario nel tratto gastroenterico può provocare talvolta nausea, dolore addominale, diarrea o vomito.

Infine, se un allergene somministrato per qualunque via raggiunge il circolo sanguigno, può produrre anafilassi, una forte reazione allergica che si manifesta anche in sedi lontane dal punto d'ingresso dell'allergene nel sangue. Reazioni

Gli accessi di starnuti che si verificano quando un individuo allergico inala del polline sono dovuti a una complessa serie di interazioni molecolari e cellulari nelle vie nasali. Altri allergeni possono indurre interazioni e sintomi analoghi.

anafilattiche particolarmente gravi possono causare anomalie funzionali in tutti gli organi, fino a provocare la morte dell'individuo.

Sebbene le manifestazioni cliniche delle reazioni allergiche possano variare, la risposta è invariabilmente attuata da un processo silente detto di sensibilizzazione. La sensibilizzazione può iniziare non appena un allergene, tipicamente una proteina, entra nell'organismo. Nelle vie aeree o in altre sedi la sostanza che induce allergia incontra i macrofagi, le «cellule spazzine». Questi ultimi fagocitano le sostanze estranee, le fanno a pezzi e ne presentano i frammenti sulla propria membrana cellulare.

Il processo di sensibilizzazione prosegue attraverso una serie di interazioni successive, non del tutto conosciute. In sostanza, comunque, quei particolari leucociti, o globuli bianchi, chiamati linfociti *T helper* riconoscono alcuni dei frammenti proteici mostrati dai macrofagi e si legano a essi. Il legame stimola questi linfociti a produrre interleuchina 4 e altre sostanze che promuovono la differenziazione dei linfociti *B* circostanti in plasmacellule, ossia cellule producenti anticorpi o immunoglobuline (Ig). A un certo punto, le plasmacellule smettono di produrre anticorpi IgM per produrre invece anticorpi IgE. Come altre classi di anticorpi, anche questi ultimi hanno la forma di una Y in cui ciascun «braccio» è in grado di legare una molecola di allergene.

Prima che gli anticorpi vengano prodotti passano giorni o settimane, e nel frattempo l'allergene che ne ha innescato la sintesi può essere scomparso da tempo. Le IgE però non spariscono. Esse si attaccano tramite il «gambo» della Y a recettori specifici presenti su due tipi cellulari. L'uno è costituito dai mastociti, che derivano dal midollo osseo e sono localizzati nei tessuti. I mastociti di solito risiedono nei pressi dei vasi sanguigni e degli epiteli (lo strato di cellule epiteliali e ghiandolari che ricopre le superfici di contatto dell'organismo con il mondo esterno). Le IgE si legano anche ai basofili, cellule che derivano dal midollo osseo, ma entrano nel flusso circolatorio sotto forma di globuli bianchi.

Una volta che la produzione di IgE è iniziata, può persistere per mesi o anche per anni. Di conseguenza anticorpi della classe delle IgE occupano costantemente le cellule dotate di recettori specifici (i mastociti e i basofili) dove rimangono pronti a reagire bruscamente al successivo incontro con l'allergene. Pertanto, anche in una persona che si rivelerà più tardi allergica, il primo incontro con l'allergene non provoca alcun sintomo; piuttosto prepara il sistema immunitario a una reazione al secondo incontro.

La seconda esposizione all'allergene scatena uno stadio molto più visibile della reazione allergica. Pochi secondi dopo il contatto tra i tessuti e l'allergene, questo si lega alle IgE poste su mastociti e basofili. Quando l'allergene «ingaggia» almeno due molecole di IgE, forma un ponte molecolare tra di esse; questo avvicinamento, a sua volta, trascina i due recettori per le IgE l'uno accanto all'altro. Questa aggregazione dei recettori attiva la cellula: la induce cioè a liberare le potenti sostanze chimiche che direttamente o indirettamente causano i sintomi allergici. (Molteplici eventi scatenanti possono provocare la liberazione delle stesse sostanze infiammatorie, ma la risposta che ne consegue non viene classificata come allergica se non sono coinvolti anticorpi di tipo IgE.)

I mastociti producono due tipi di mediatori chimici ben caratterizzati, chiamati globalmente mediatori della reazione allergica. L'uno è costituito da sostanze sintetizzate prima del legame con l'antigene e immagazzinate in microscopici granuli all'interno della cellula. Il legame dell'allergene con le IgE poste sui recettori di membrana causa la fusione dei granuli con la membrana cellulare e la fuoriuscita del loro contenuto all'esterno della cellula.

L'istamina, descritta per la prima volta nel 1911 da Sir Henry Dale (che ottenne il premio Nobel nel 1936 per la scoperta della trasmissione chimica dell'impulso nervoso), è forse il più famigerato tra questi mediatori presintetizzati. Può stimolare la produzione di muco da parte degli epiteli, contribuendo pertanto alla congestione delle vie aeree. Può far contrarre la muscolatura liscia che circonda come un manicotto elastico la parete delle vie aeree e intestinali. L'istamina può anche far dilatare i piccoli vasi sanguigni e aumentarne la permeabilità, consentendo la fuoriuscita di liquido nei tessuti. Questi effetti possono produrre arrossamento e tumefazione. Se queste alterazioni vascolari sono diffuse, possono condurre allo shock ipotensivo: una imponente caduta della pressione arteriosa, accompagnata da drastica riduzione del rifornimento d'ossigeno a cuore e cervello. Questa situazione può molto spesso risultare fatale.

Il secondo gruppo di mediatori, scoperto molti decenni dopo al Karolinska Institut di Stoccolma, è costituito da sostanze del gruppo dei lipidi (grassi) - principalmente prostaglàndine e leucotrieni - sintetizzate dopo che gli allergeni hanno stabilito il contatto con le IgE sulla membrana cellulare. Come l'istamina, entrambi i tipi di lipidi possono produrre spasmo bronchiale e dilatazione dei vasi sanguigni, ma - e ciò è assai più grave - il loro effetto è più persistente. Inoltre i mastociti attivati liberano una varietà di enzimi potenzialmente tossici. Altre osservazioni indicano che queste cellule secernono anche citochine, piccole proteine che regolano le attività di altre cellule del sistema immunitario. A volte, tutti i sintomi di una reazione allergica sembrano spiegabili con la rapida liberazione di mediatori da parte dei masto-

I vari stadi di una reazione allergica

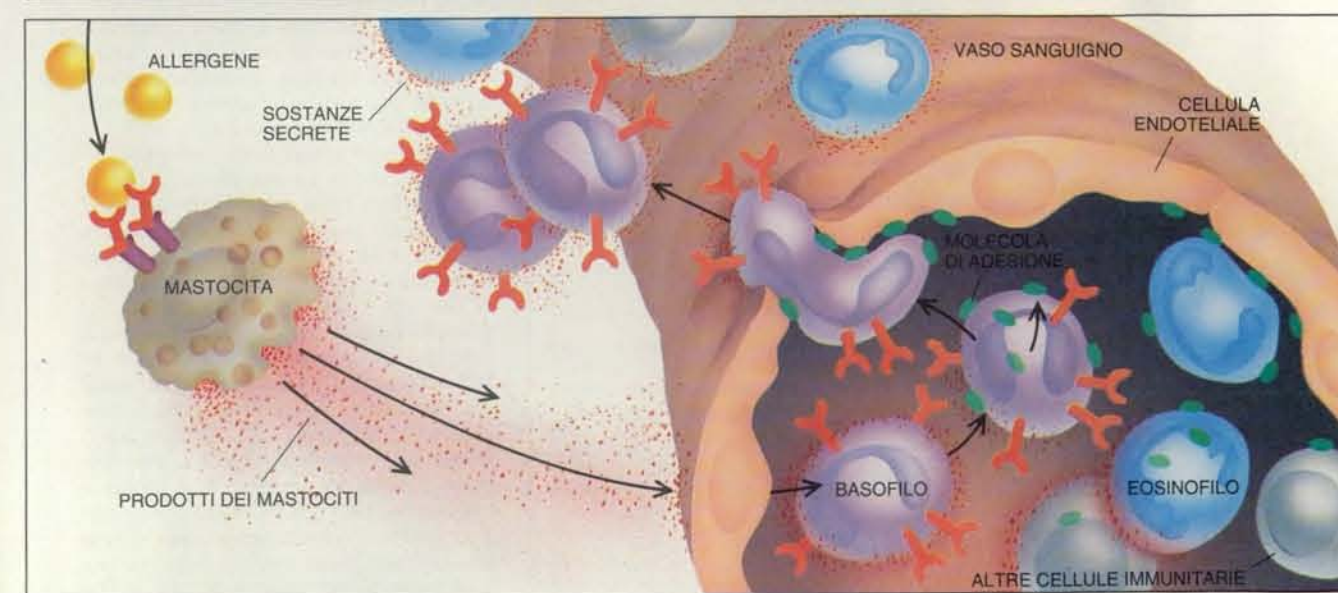
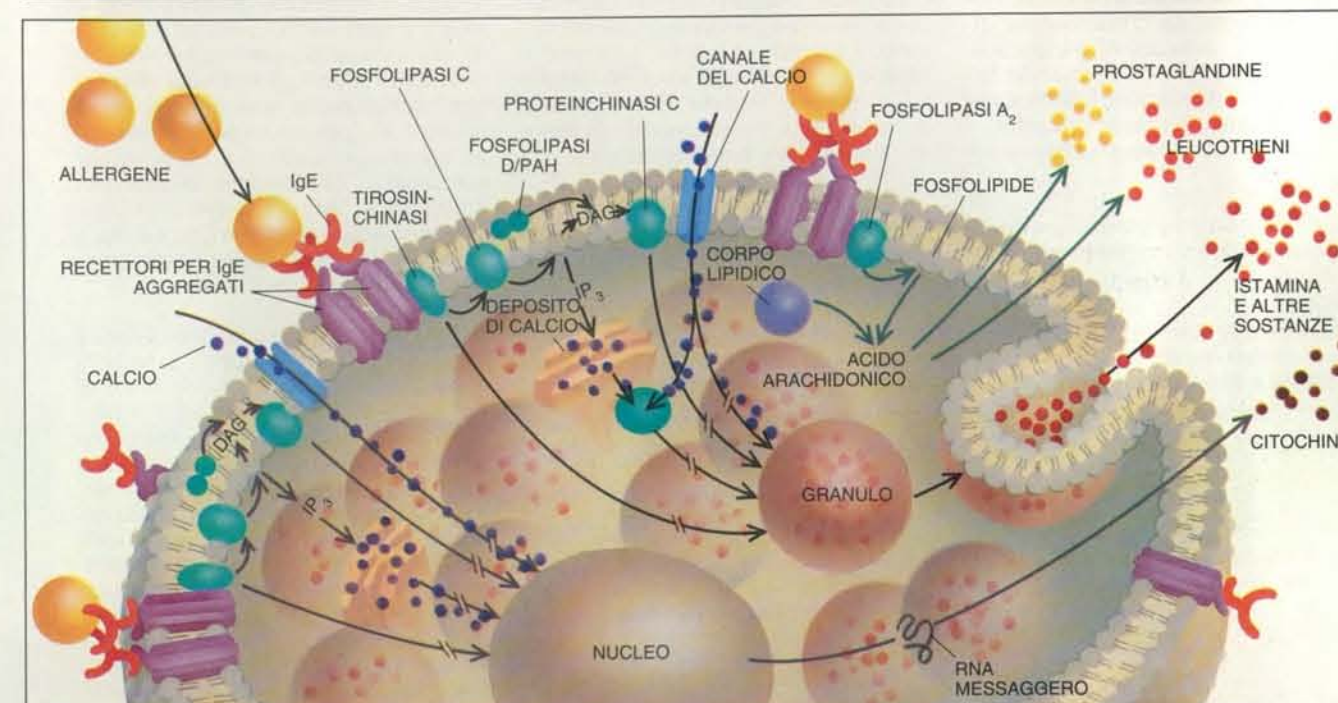
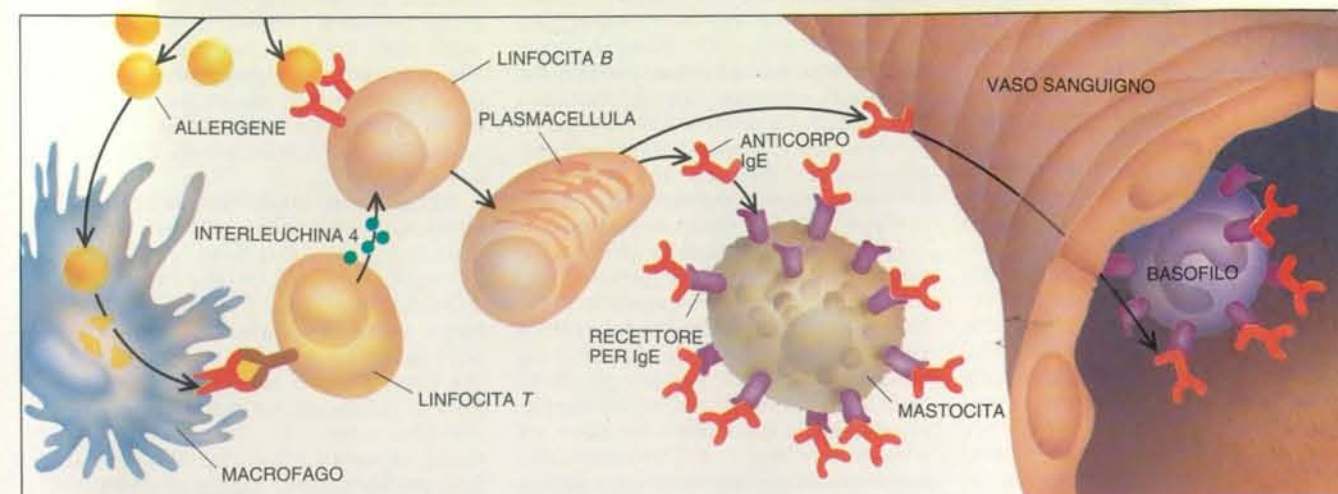
1. SENSIBILIZZAZIONE

Il primo incontro tra un allergene e il sistema immunitario non produce sintomi; piuttosto, può preparare l'organismo a reagire prontamente a futuri contatti con quella sostanza. Il processo di sensibilizzazione inizia quando i macrofagi degradano l'allergene e presentano i frammenti risultanti ai linfociti *T* (*in basso a sinistra*). I passaggi successivi non sono completamente chiari, ma il processo coinvolge la secrezione di interleuchina 4 da parte delle cellule *T*. I linfociti *B* maturano trasformandosi in plasmacellule capaci di secernere molecole specifiche per l'allergene denominate immunoglobuline E (IgE). Queste ultime sono una classe di anticorpi che si lega a specifici recettori presenti sui mastociti tissutali e sui basofili contenuti nel circolo sanguigno.

2. ATTIVAZIONE DEI MASTOCITI

Nei successivi incontri tra l'allergene e l'organismo, le molecole di allergene si legano prontamente alle IgE sui mastociti (*in alto a sinistra*). Quando una di queste molecole si lega a due molecole di IgE sulla membrana, avvicina i due recettori per le IgE a cui esse sono ancorate attivando, direttamente o indirettamente, vari enzimi inseriti nella membrana cellulare (*pallini in verde*). Cascate di reazioni biochimiche che coinvolgono enzimi quali tirosinchinasi, fosfolipasi C e proteinchinasi C e favoriscono l'afflusso di ioni calcio inducono granuli carichi di sostanze chimiche a liberare il loro contenuto. Queste reazioni biochimiche appaiono importanti anche per indurre la secrezione delle citochine. Altre sequenze d'interazioni molecolari hanno come risultato la secrezione di sostanze di natura lipidica quali prostaglandine e leucotrieni. Le svariate sostanze chimiche liberate dai mastociti sono responsabili di molti sintomi dell'allergia. Abbiamo mostrato solo i passaggi principali delle reazioni ritenute più importanti; alcuni di questi non sono ben conosciuti (*frecce interrotte*).

3. PERSISTENZA DELLA REAZIONE IMMUNITARIA

Le sostanze chimiche liberate dai mastociti e dalle cellule attigue nei tessuti inducono i basofili, gli eosinofili e altri tipi cellulari circolanti ad attraversare l'endotelio e a entrare in quel tessuto. Le sostanze chimiche in questione agiscono favorendo l'espressione e l'attività di molecole di adesione sulle cellule circolanti e sulle cellule dell'endotelio vascolare. Di conseguenza le cellule del sangue aderiscono alla parete endoteliale dei piccoli vasi, scorrono lungo di essa e, infine, l'attraversano raggiungendo la matrice interstiziale che circonda i vasi. Qui, a loro volta, i mastociti secernono mediatori chimici (*puntini in arancione*) che possono prolungare la risposta immunitaria locale danneggiando il tessuto.

citi. Per esempio, una repentina attivazione di queste cellule sembra essere responsabile della reazione anafilattica, ovvero delle situazioni in cui la presenza di un cane o di un gatto provoca starnuti e crisi asmatiche nello sfortunato ospite allergico.

Nella maggior parte dei casi, tuttavia, la reazione allergica progredisce fino a un terzo stadio, spesso cronico. A questo punto si pensa che i mastociti attraggano altre cellule del sistema immunitario dal sangue verso i tessuti. Queste cellule includono i basofili (che, come i mastociti, contengono granuli) e gli eosinofili (globuli bianchi dotati di granuli caratteristici), oltre a linfociti *T* e monociti (i precursori dei macrofagi che si trovano nei tessuti). La presenza di un gran numero di basofili ed eosinofili in una lesione infiammatoria costituisce un'altra caratteristica fondamentale condivisa dall'allergia e dalle infestazioni parassitarie. Questi tipi cellulari sono pressoché assenti nelle sedi d'invasione batterica, dove predominano i leucociti neutrofili.

Le cellule così reclutate secernono sostanze che possono prolungare ed esacerbare i sintomi iniziali e danneggiare localmente i tessuti. Per esempio i basofili, che sono attivati grosso modo come i mastociti, emettono molti dei mediatori presintetizzati e di quelli lipidici presenti nei mastociti. Gli eosinofili liberano proteine tossiche; tra queste una, la proteina basica maggiore, può danneggiare le cellule epiteliali dell'albero respiratorio.

Le conoscenze attuali su questo terzo stadio - spesso chiamato ipersensibilità ritardata - derivano da esperimenti effettuati nel mio laboratorio alla Johns Hopkins University e altrove. Una tecnica standard è quella di studiare gli effetti degli allergeni somministrandoli direttamente per via inalatoria o intradermica a volontari allergici. A livello cellulare, la reazione acuta (attivazione dei mastociti tissutali) è seguita in molti individui, alcune ore dopo, da una reazione infiammatoria ritardata; i basofili e un vero e proprio esercito di altri leucociti invadono la cute o la mucosa delle vie aeree, generando una seconda ondata di sintomi. Vari dati mi fanno pensare che nel modello sperimentale, e probabilmente anche in natura, i basofili siano responsabili della maggior parte degli eventi che caratterizzano l'ipersensibilità ritardata; le citochine da essi secrete possono infatti spiegare sia i sintomi sia il mantenimento dell'attivazione di altri tipi cellulari.

Alcuni minuti dopo l'inalazione di un allergene, l'attivazione cellulare tipica della fase acuta si manifesta con starnuti e congestione nasale, ovvero con sibili e difficoltà respiratoria. I sintomi generalmente scompaiono in un'ora, ma ritornano alcune ore più tardi, in coincidenza con l'invasione dei tessuti interessati da parte di cellule del torrente circolatorio che attraversano gli epiteli. Analogamente, la somministrazione di un allergene per via cutanea induce una reazione acuta di tipo eritematoso con arrossamento e tumefazione, seguita più tardi da una reazione più persistente. Nella vita di tutti i giorni gli individui allergici non sperimentano necessariamente la reazione di ipersensibilità ritardata dopo un attacco acuto; ma l'esposizione continuativa ad allergeni in individui sensibilizzati può dare come risultato una persistente infiammazione tardiva e quindi una sintomatologia allergica continua o facilmente evocabile.

I mediatori della reazione allergica

Le molecole liberate dai mastociti e dai basofili attivati sono responsabili di molti dei sintomi dell'allergia. L'elenco qui riportato include una parte di queste sostanze e alcuni dei loro effetti, che possono essere ridondanti.

	SOSTANZE	ATTIVITÀ	SINTOMI
MEDIATORI CONTENUTI NEI GRANULI	Istamina	Riduce il diametro dei bronchi	Sibilo, difficoltà respiratoria
		Dilata i vasi sanguigni	Rossore locale nelle sedi di somministrazione dell'allergene; se la dilatazione è diffusa, può contribuire a una caduta letale della pressione arteriosa (shock)
		Aumenta la permeabilità dei piccoli vasi sanguigni	Edema locale dei tessuti; se l'aumento di permeabilità è diffuso, può contribuire allo shock
		Stimola le terminazioni nervose	Prurito e dolore cutanei
		Stimola la secrezione di muco nelle vie aeree	Congestione delle vie aeree
	Fattore di attivazione delle piastrine (PAF)	Riduce il diametro dei bronchi	Come quelli indotti dall'istamina
		Dilata i vasi sanguigni	Come quelli indotti dall'istamina
MEDIATORI LIPIDICI	Leucotrieni	Riduce il diametro dei bronchi	Come quelli indotti dall'istamina
		Aumenta la permeabilità dei piccoli vasi sanguigni	Come quelli indotti dall'istamina
	Prostaglandina D	Riduce il diametro dei bronchi	Come quelli indotti dall'istamina

Gran parte di quanto ho detto finora è nota da tempo; tuttavia, a mano a mano che lo scenario si arricchisce di dettagli, si possono mettere a punto nuove strategie terapeutiche. Un settore assai attivo in termini di studi sperimentali è quello che si focalizza sulla prima parte della reazione allergica: la regolazione della sintesi di IgE. Perché gli individui allergici producono quantità anormalmente elevate di IgE? (Le concentrazioni di anticorpi di tipo diverso variano assai poco da individuo a individuo, mentre quelle delle molecole di IgE possono differenziarsi considerevolmente. Negli individui allergici i livelli di queste immunoglobuline restano comunque molto al di sotto di quelli di altre classi di anticorpi, ma possono essere migliaia di volte più elevati di quelli riscontrati in soggetti non allergici.)

Parte della spiegazione per questi livelli anticorpali particolarmente elevati può risiedere nella natura delle cellule *T* attive negli individui allergici. Recenti scoperte indicano che le cellule *T* helper coinvolte nella reazione allergica sono di due tipi - Th1 e Th2 - e che le Th2 predominano. È altresì noto che le cellule Th2 producono interleuchina 4 e interleuchina 5, ma non interferone gamma, mentre le Th1 secernono interferone gamma e interleuchina 2, ma non interleuchina 4 e interleuchina 5. L'interleuchina 4 induce i linfociti *B* a produrre anticorpi di tipo IgE piuttosto che di altri tipi. Inoltre l'interferone gamma ritarda tale sintesi. Questi risultati indicano che è la proporzione relativa di Th1 e Th2 che determina se le cellule *B* daranno origine a molecole IgE o ad anticorpi di altro tipo. Inoltre farmaci che interferiscono con la sintesi o con l'attività dell'interleuchina 4 aiutano a ridurre i livelli di IgE e quindi a prevenire le reazioni allergiche.

Molti ricercatori, concentrandosi sugli effetti piuttosto che sulla sintesi degli anticorpi IgE, stanno ora cercando di ricostruire le complesse vie di trasduzione del segnale di attivazione nei mastociti e nei basofili: in altre parole, cercano di determinare la serie di eventi biochimici che porta dal legame delle molecole IgE sulla membrana cellulare fino alla liberazione delle sostanze che inducono la comparsa dei sintomi. Sensazionale è in questo contesto la scoperta dei geni per tre tipi di proteine che costituiscono il recettore per gli anticorpi IgE, la cui clonazione ha permesso di determinare parti cruciali della struttura tridimensionale del recettore. Quando le specifiche funzioni delle tre subunità del recettore saranno ben individuate, dovrebbe divenire possibile il blocco selettivo delle loro attività biologiche, e quindi della liberazione di mediatori.

È altresì chiaro che, quando un allergene si lega a due o più molecole IgE sulla membrana e trascina l'uno accanto all'altro i rispettivi recettori, l'attivazione recettoriale avvia cascate ben distinte di reazioni biochimiche. Da qualche tempo ci si è resi conto che almeno una di queste cascate, che termina con la degranulazione delle cellule e la liberazione dei mediatori, dipende dall'attività dell'enzima proteinchinasi C. È stato pure scoperto che l'enzima fosfolipasi A_2 ha un ruolo centrale nella secrezione di leucotrieni e prostaglandine. Più recentemente si è visto che diverse tirosinchinasi (enzimi che addizionano gruppi fosfato ad amminoacidi come la tirosina) attivano ulteriori cascate di reazioni biochimiche che promuovono la liberazione di mediatori accumulati in granuli intracellulari. Dal momento che molte reazioni hanno lo stesso risultato finale - la secrezione di particolari mediatori e citochine - le terapie che bloccano una sola di queste vie potrebbero avere una efficacia parziale. L'interruzione di due o più vie sembra però dar luogo a sinergia. Si stanno già mettendo a punto composti che interferiscono con enzimi coinvolti nella produzione di mediatori specifici. L'agente terapeutico prototipo impedisce l'attività di un enzima detto 5-lipossigenasi, e così facendo ritarda la produzione di diversi leucotrieni. Le prove preliminari con questo farmaco dimostrano che negli asmatici esso riduce la flogosi.

Oltre alla trasduzione del segnale, si deve spiegare come basofili, eosinofili e altri leucociti vengano reclutati in siti ove i mastociti tissutali sono attivi. Vi è un generale consenso nel ritenere che la stimolazione dei mastociti induca la liberazione di sostanze che penetrano nei piccoli vasi locali e aumentano l'espressione delle molecole di adesione sui leucociti circolanti e sulle cellule endoteliali che tappezzano l'interno dei piccoli vasi. Le sostanze chimiche prodotte includono leucotrieni, il cosiddetto fattore di attivazione delle piastrine (PAF) e probabilmente altre citochine; fra le molecole di adesione vi sono integrine, selectine e molecole di adesione della superfamiglia delle immunoglobuline. Da parte loro, i leucociti aderiscono alla parete dei vasi e si distendono su di essa; quindi migrano fra le cellule endoteliali e diffondono nel tessuto circostante. Qui l'insieme delle sostanze chimiche prodotte dai vari tipi cellulari controlla la direzione e l'entità della diffusione dei leucociti e stabilisce se essi debbano sopravvivere o morire. Per esempio, le interleuchine 3 e 5 (citochine prodotte dai linfociti *T*) e il GM-CSF (un'altra citochina prodotta dalle cellule endoteliali, dai macrofagi e da altri tipi cellulari) facilitano la migrazione di eosinofili e basofili e possono prolungarne la sopravvivenza. Un'ulteriore citochina, RANTES, prodotta dai linfociti *T* e da altri tipi cellulari, sembra regolare la migrazione degli eosinofili.

L'acaro della polvere, invisibile a occhio nudo, è la causa più comune della rinite allergica cronica. La reazione viene provocata dall'inalazione delle feci dell'acaro.

A quanto pare, quindi, sono molte e svariate molecole e cellule, e non una singola sostanza chimica, a essere responsabili della presenza di specifici tipi di cellule nella reazione allergica. Se la combinazione dei fattori responsabili della migrazione dei basofili e degli eosinofili nella reazione allergica potrà essere chiarita, anche questo passaggio critico finirà per poter essere controllato farmacologicamente.

È spesso utile parlare d'allergia come se si trattasse di una sola entità patologica, ma conviene anche cercare le modalità migliori per diagnosticare e trattare condizioni allergiche specifiche. Di queste, la rinite allergica è la forma prevalente, in quanto colpisce circa il 15 per cento della popolazione (il dato si riferisce agli Stati Uniti).

Questa malattia ha due forme. Gli individui che sono colpiti da una variante - la febbre da fieno - presentano sintomi solo stagionali: possono essere allergici a pollini d'alberi o di graminacee in primavera o a pollini di erbe selvatiche in autunno. Nella varietà non stagionale, i sintomi sono più probabilmente da riferirsi all'esposizione ad allergeni presenti all'interno delle mura domestiche come l'acaro della polvere, pressoché ubiquitario. La rinite allergica non è mai letale, ma può portare a complicazioni come sinusite, polipi nasali e asma. È altresì causa di sofferenze, di disagi e di notevoli spese sanitarie.

Il medico può confermare la diagnosi osservando la reazione eritematoso-pomfoide che si manifesta in seguito alla inoculazione di piccolissime quantità dell'allergene considerato sospetto. Gli antistaminici sono di solito efficaci contro queste forme di allergia, e costituiscono ancora il trattamento standard. Le ultime versioni di questa categoria di farmaci non attraversano facilmente la barriera ematoencefalica e pertanto non causano sonnolenza. Quando l'infiammazione è grave e gli antistaminici non bastano, sono spesso utili i farmaci generalmente somministrati per alleviare l'infiammazione cronica dell'asma (cioè gli steroidi per via inalatoria). Anticipo qui che i nuovi farmaci in corso di sperimentazione su pazienti asmatici, e di cui parlerò più avanti, potrebbero rappresentare valide alternative per i sofferenti di rinite allergica.

Per i casi gravi, l'immunoterapia (detta anche iposensibilizzazione), che fu introdotta nel 1911, può dare qualche risultato. Ai pazienti vengono somministrate dosi crescenti dell'allergene a cui sono sensibilizzati. Mi piacerebbe poter

descrivere il meccanismo attraverso il quale l'immunoterapia conferisce resistenza a un allergene, ma a tutt'oggi nessuno ha fornito una spiegazione definitiva. Ciononondimeno studi controllati sono stati svolti negli anni cinquanta da A. William Frankland al St. Mary's Hospital di Londra e da Francis C. Lowell alla Harvard University; essi hanno dimostrato che l'immunoterapia per le sensibilizzazioni alle graminacee e alle composite può alleviare la rinite allergica e l'asma. Io stesso, insieme con i miei colleghi, ho potuto confermare questa osservazione, mentre altri hanno dimostrato che anche gli allergeni dell'acaro della polvere possono essere altrettanto efficaci. In tutti i casi, comunque, il dosaggio è un fattore critico: se l'allergene non è sufficiente, non produce alcuna protezione. Inoltre, in realtà, la desensibilizzazione è raramente completa.

L'asma è una malattia assai più seria, e talora perfino fatale. Grosso modo il 5-10 per cento dei bambini soffre di questa patologia, anche se circa un terzo di costoro non ha più sintomi dopo l'adolescenza. Al contrario, un altro 5-10 per cento dei casi di asma si presenta per la prima volta in età adulta; in realtà il primo episodio può verificarsi in ogni momento, persino a ottant'anni suonati.

Come per la rinite allergica, anche nel caso dell'asma s'individuano due tipi di malattia. Nella forma estrinseca l'allergene responsabile può essere identificato, mentre in quella intrinseca i sintomi non possono essere ricondotti a sostanze capaci di stimolare la produzione di anticorpi di tipo IgE. A onor del vero, tuttavia, le caratteristiche fisiopatologiche dell'asma si possono probabilmente ricondurre ad almeno cinque o sei processi morbosi, alcuni dei quali possono coinvolgere risposte IgE-dipendenti.

Una caratteristica patognomonica della condizione asmatica è costituita dall'irritabilità bronchiale. Se confrontati con quelli dei non asmatici, infatti, i bronchi degli asmatici si contraggono per stimolazione con dosi anche molto basse dei cosiddetti composti broncocostrittori (quali metacolina o istamina) o irritanti (come l'ozono o il fumo di tabacco). Negli asmatici, inoltre, il freddo, l'esercizio fisico e l'aria troppo secca possono scatenare una crisi.

Gli asmatici possono anche andare soggetti a ostruzione cronica, ma potenzialmente reversibile, delle vie aeree inferiori. Si ritiene che gran parte dell'ostruzione bronchiale in atto in questo caso derivi da processi infiammatori simili alla reazione di ipersensibilità ritardata prodotta in laboratorio. Verosimilmente le sostanze chimiche liberate dai mastociti e dai basofili richiamati nella parete bronchiale si combinano con le proteine tossiche prodotte dagli eosinofili per promuovere la produzione di muco e il danno tissutale, l'ispessimento delle pareti bronchiali e forse anche l'aumento della iperreattività bronchiale. In presenza di un allergene si sovrappone la broncocostrizione, peggiorando la situazione dei bronchi già parzialmente ostruiti.

I broncodilatatori sono i farmaci più comunemente usati per l'asma; essi alleviano i sintomi provocati dall'istamina e dagli altri agenti broncocostrittori immediatamente dopo l'esposizione all'allergene. Tuttavia, probabilmente non agiscono sullo stato infiammatorio che dei sintomi è alla base. Inoltre l'abuso di broncodilatatori può avere un effetto paradossale di ritorno aggravato dei sintomi (*rebound*), con effettiva riduzione della ventilazione. La pratica medica più accreditata tende a privilegiare un trattamento specifico dell'infiammazione bronchiale associato a un trattamento separato degli episodi acuti.

Gli antinfiammatori utilizzati per questo scopo sono corticosteroidi e farmaci non steroidei. Di questi, i primi sono i più potenti. Fino a circa dieci anni fa, i pazienti assumevano questi farmaci per via orale e gli effetti collaterali (per esempio aumento ponderale, osteoporosi e ulcere) costituivano un problema importante. Più recentemente molti studi hanno dimostrato che la loro versione inalatoria può consentire un buon controllo della malattia senza produrre effetti indesiderati. D'altro canto, gli steroidi somministrati per via inalatoria o topica possono non avere pieno effetto in persone che presentano frequenti attacchi asmatici o difficoltà respiratoria persistente.

Quest'ultimo problema ha stimolato la ricerca di farmaci antinfiammatori che abbiano la stessa efficacia degli steroidi ma che siano relativamente poco tossici. Tra i candidati più promettenti, le categorie degne di maggior attenzione sono due: da una parte i farmaci che interferiscono con l'attività delle citochine liberate nel corso dell'infiammazione, dall'altra i composti che bloccano la funzione delle molecole d'adesione, cioè la migrazione delle cellule del sistema immunitario dal sangue ai tessuti. In teoria queste sostanze dovrebbero alleviare non solo i sintomi dell'asma, ma anche quelli di molte altre patologie allergiche, alcune delle quali particolarmente difficili da trattare (come le allergie cutanee croniche). Questi farmaci non sono ancora entrati in fase di sperimentazione clinica per la terapia dell'asma, ma i risultati di studi preliminari sull'uomo e su altri primati sono incoraggianti.

La ricerca nel campo delle terapie sperimentali dell'asma non termina qui. Oltre a mettere a punto molecole che interferiscano con la trasduzione del segnale, le industrie farmaceutiche stanno progettando nuovi composti che inibiscano l'attività dei mediatori prodotti dai mastociti e dai basofili. Per esempio molte industrie si trovano ormai a un avanzato livello di sperimentazione per quanto riguarda le molecole che interferiscono con la funzione dei leucotrieni. Questi farmaci consentono una riduzione dei sintomi, e la loro efficacia è persino potenziata dall'associazione con antistaminici. (Gli antistaminici di per sé non sono particolarmente efficaci nella terapia dell'asma, probabilmente perché le cellule richiamate dall'infiammazione allergica producono grandi quantità di leucotrieni e di altri mediatori aventi gli stessi effetti fisiopatologici.)

Si continua altresì a valutare l'efficacia dell'immunoterapia nel trattamento dell'asma. Questa terapia viene prescritta più frequentemente dagli allergologi che non dagli pneumologi. Quando in medicina esiste una tale disparità di vedute, è segno che il trattamento in questione non ha effetti risolutivi nella maggior parte dei pazienti. Un recente studio condotto dai National Institutes of Health ha dimostrato che l'immunoterapia con estratti pollinici di composite reca solo modesti benefici agli individui asmatici.

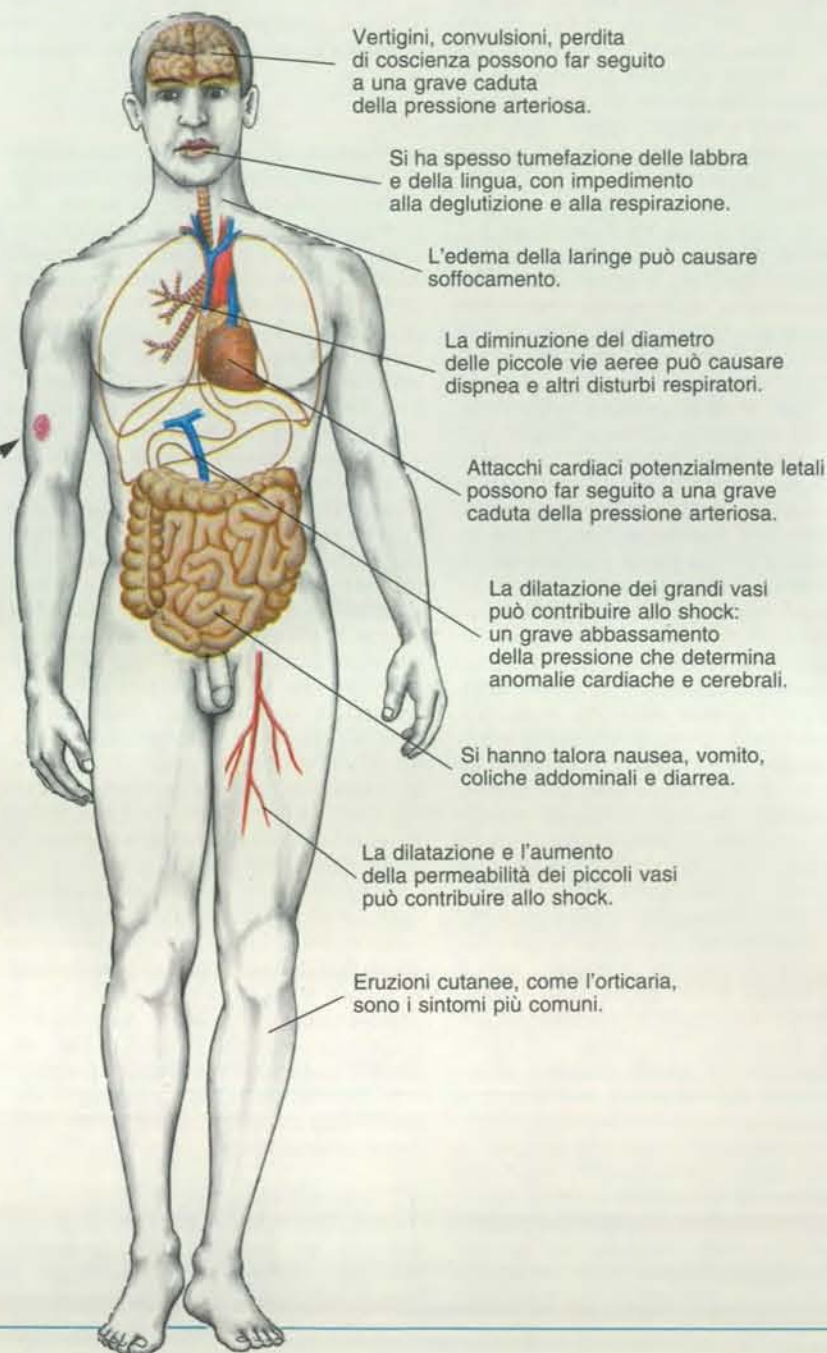
Purtroppo, l'incidenza dell'asma e il numero delle morti a essa associate hanno subito un incremento del 60 per cento nel corso degli anni ottanta. Non è ancora stata trovata una spiegazione di questo fenomeno, così come rimane oscuro il motivo per cui negli Stati Uniti il rischio di morte associato a questa malattia è tre volte più alto per gli afroamericani che non per la popolazione di origine europea. Per spiegare questa elevata mortalità globale si è ipotizzato fra l'altro un uso eccessivo, o viceversa inefficace, dei broncodilatatori, così come un'aumentata esposizione a inquinanti ambientali e ad allergeni. Per quanto riguarda la popolazione afroamericana, inoltre, può essere chiamata in causa anche una scarsa disponibilità di cure mediche.

Proprio come l'asma può essere letale, così può esserlo l'anafilassi, che è motivo di grandissimo allarme sia per il paziente sia per il medico chiamato a curarla. La prima descrizione di shock anafilattico risale all'antico Egitto e riguarda la morte del faraone Menes in seguito alla puntura di un insetto. Al giorno d'oggi, negli Stati Uniti si verificano probabilmente ogni anno milioni di reazioni anafilattiche, sebbene ufficialmente se ne siano riportato solo qualche centinaio di decessi.

I sintomi, che possono variare da caso a caso, derivano comunque dall'improvvisa liberazione di un'enorme quantità di sostanze dai mastociti. Questa esplosiva secrezione di mediatori scatena uno o più sintomi nel giro di pochi minuti e può portare a morte improvvisa. Lo shock è tra le principali cause di morte in questi casi. La morte può talora far seguito a tumefazione delle corde vocali (a seguito della comparsa di edema dei

I mastociti umani hanno un aspetto assai diverso prima (*a sinistra*) e dopo (*a destra*) essere stati attivati. Le cellule attivate perdono molti granuli (*piccole sfere scure*) e mostrano diffuse alterazioni della superficie. Le grosse sfere nella cellula a sinistra sono corpi lipidici, che possono partecipare alla sintesi dei lipidi secreti dai mastociti stimolati. Le microfotografie sono di Ann M. Dvorak della Harvard Medical School.

Dopo una puntura

La puntura di un insetto in un individuo allergico può causare anafilassi: una reazione che provoca gravi effetti in sedi lontane dal punto in cui è stato iniettato l'allergene. Uno o più tra i sintomi qui elencati potrebbero insorgere in qualunque individuo. Le reazioni sistemiche hanno luogo perché il veleno si diffonde attraverso il circolo sanguigno giungendo così ad attivare tutti i mastociti sensibilizzati dell'organismo.

Vertigini, convulsioni, perdita di coscienza possono far seguito a una grave caduta della pressione arteriosa.

Si ha spesso tumefazione delle labbra e della lingua, con impedimento alla deglutizione e alla respirazione.

L'edema della laringe può causare soffocamento.

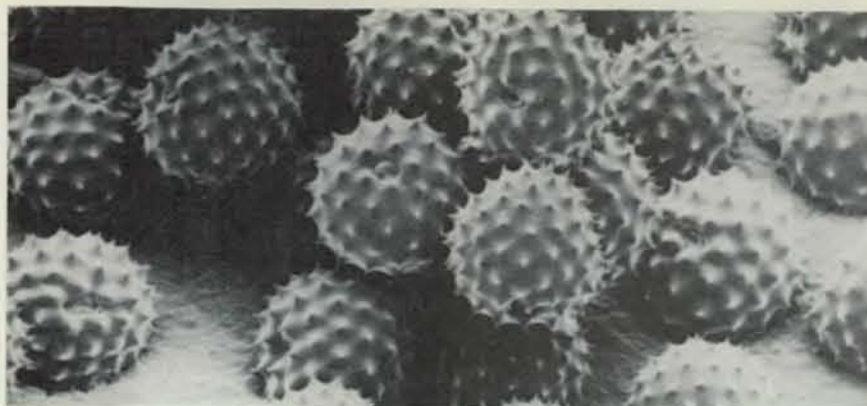
La diminuzione del diametro delle piccole vie aeree può causare dispnea e altri disturbi respiratori.

Attacchi cardiaci potenzialmente letali possono far seguito a una grave caduta della pressione arteriosa.

La dilatazione dei grandi vasi può contribuire allo shock: un grave abbassamento della pressione che determina anomalie cardiache e cerebrali.

Si hanno talora nausea, vomito, coliche addominali e diarrea.

La dilatazione e l'aumento della permeabilità dei piccoli vasi può contribuire allo shock.

Eruzioni cutanee, come l'orticaria, sono i sintomi più comuni.

Per molti soggetti i pollini delle piante sono altamente allergenici. Questi pollini d'ambrosia sono stati fotografati da David J. Lim a un ingrandimento di 1850 volte.

tessuti in quella sede) e conseguente occlusione delle vie aeree. Questo problema è uno dei pochi che è possibile risolvere sul momento, con la tracheotomia: l'apertura di un foro nella trachea, subito sotto il cosiddetto pomo d'Adamo - per esempio con un temperino o un coltello da tavola o la punta di una penna stilografica - è una manovra che può salvare la vita di una persona. Altre possibili manifestazioni cliniche dell'attività dei mastociti includono la broncocostrizione a carico delle vie aeree inferiori. Anche le manifestazioni cutanee, incluso il prurito, sono particolarmente comuni, mentre al contrario i fenomeni gastroenterici sono piuttosto rari.

È assai interessante notare come, in individui che in passato già hanno avuto episodi di shock anafilattico, lo stesso insieme di sintomi si riproponga in eguale maniera. Questi sintomi possono essere preceduti da un'aura durante la quale il paziente ha la sensazione di un grave pericolo imminente o viceversa, stranamente, un grande senso di pace e di calma. Sia nel caso che lo shock anafilattico abbia luogo per la prima volta sia nel caso in cui si tratti di un episodio già verificatosi, è una situazione di grave emergenza medica. Di conseguenza, il trattamento si focalizza sul controllo dei sintomi più gravi; normalmente si basa sulla somministrazione di adrenalina, che blocca la liberazione di mediatori, apre le vie aeree e contrasta la dilatazione dei piccoli vasi. Ovviamente il miglior trattamento consiste nell'evitare l'esposizione all'agente causale. Nel caso delle punture d'insetti, quest'ultima strategia è spesso in pratica impossibile e pertanto l'immunizzazione con il veleno di insetti comuni come api e vespe può essere efficacemente utilizzata per prevenire la reazione allergica.

La terapia desensibilizzante con il veleno d'insetto ha una storia istruttiva, che sottolinea come sia fondamentale effettuare sperimentazioni cliniche corrette delle nuove terapie. Negli anni trenta, nel primo volume del «Journal of Allergy», Robert L. Benson e Herman Semenov dell'Università dell'Oregon descrissero il caso di un allevatore d'api che ebbe uno shock anafilattico a seguito di una puntura. Ricercando l'allergene che poteva essere utilizzato per prevenire la reazione, essi effettuarono test cutanei su quel paziente sia con il veleno d'ape (che venne in seguito identificato come il vero allergene) sia con un estratto totale d'api. Essi trovarono che il paziente rispondeva con eguale intensità a entrambi i preparati e conclusero pertanto che tutti i pazienti con quelle caratteristiche potevano trarre beneficio da un vaccino preparato con estratto totale d'api, notevolmente meno difficile e costoso da ottenere rispetto al veleno.

Sfortunatamente, essi omisero di considerare che gli allevatori di api danno risposte positive sia al veleno sia ad altri costituenti del corpo delle api perché inalano continuamente parti di insetti morti e sono quindi sensibilizzati anche a queste ultime. Nella popolazione generale di controllo, invece, l'incontro con le api è assai più occasionale e non si ha sensibilizzazione.

Basandosi su quella singola osservazione riportata nella letteratura, per il mezzo secolo a seguire si desensibilizzarono i pazienti utilizzando estratti totali d'ape, finché i miei colleghi e io non effettuammo uno studio per confrontare l'efficacia preventiva di un placebo, dell'estratto totale e del veleno. Scoprimmo che l'estratto totale non dava effetti significativamente diversi dal placebo; al contrario, il veleno purificato era invariabilmente efficace nel prevenire l'anafilassi da puntura d'ape. Pertanto, a causa della mancanza di uno studio controllato, i medici avevano trattato per anni i loro pazienti con un preparato del tutto inefficace. Oggigiorno viene somministrato solo il veleno.

Le allergie alimentari, che possono causare reazioni sia locali sia sistemiche, meritano una menzione particolare a causa dei diffusi preconcetti che le riguardano. Queste forme d'allergia sono comuni nei bambini. In uno studio classico, il mio collega Hugh A. Sampson ha dimostrato che gli individui colpiti sono di solito sensibilizzati a proteine del latte, delle noci o delle uova. I sintomi, tipicamente eruzioni cutanee, possono passare quasi inosservati. Per essere certi della diagnosi, al Johns Hopkins eseguiamo un test cutaneo standard. Se risulta positivo, effettuiamo una prova in doppio cieco; un giorno si somministra al bambino una capsula contenente un allergene o un placebo, e il giorno dopo gli si dà la capsula rimanente. Al momento del test, né il paziente né i genitori né il medico sanno se la capsula ingerita contiene l'alimento o il placebo.

Negli adulti la relazione causa-effetto tra l'ingestione del cibo e la comparsa dei sintomi è normalmente ovvia, perché compare immediatamente una sintomatologia evidentissima. Nella maggior parte dei casi il soggetto sviluppa una reazione del tipo dell'orticaria o soffre di una più grave reazione anafilattica entro pochi minuti dall'ingestione dell'alimento incriminato. L'allergia sospettata viene quindi confermata con un semplice test cutaneo. Probabilmente decine di persone muoiono ogni anno a causa di particelle di alimenti a cui sono allergiche presenti come residui in altri preparati alimentari.

Le allergie alimentari nell'adulto sono piuttosto rare e colpiscono dall'uno al due per cento della popolazione. Cionondimeno circa il 25 per cento degli statunitensi si crede allergico a qualche alimento ed è convinto che questa sensibilizzazione generi disturbi vaghi quali depressione, affaticamento o eccessiva irritabilità. Sono colpito da questo fenomeno, perché ci sono medici che assecondano questi pazienti, usando test diagnostici assolutamente inaffidabili per individuare un'allergia alimentare. Secondo una mia valutazione, centinaia di milioni di dollari sono spesi ogni anno per questi esami e trattamenti inutili.

Non sono questi i casi più preoccupanti. Un gruppo che si definisce «clinici ecologisti» diagnostica forme di sensibilizzazione all'ambiente, per contaminanti minori dell'acqua, degli alimenti o dell'aria, anche nel caso in cui tali contaminanti non possano di fatto indurre reazioni allergiche. Come nel caso precedente, questi medici basano la loro diagnosi su tecniche dall'efficacia non dimostrata; tutti i metodi utilizzati in questo settore non hanno mai rivelato alcuna validità nelle sperimentazioni cliniche controllate. Cionondimeno i clinici ecologisti e i loro pazienti si fanno grande pubblicità, sicché io temo che i già limitati fondi federali per la ricerca vengano stornati per lo studio di queste cosiddette allergie ambientali.

Infine, vengono offerti molti tipi discutibili di immunoterapia. Per esempio, coloro che praticano la tecnica Rinkel iniettano dosi omeopatiche di allergene. Alcuni anni fa, parecchi dei miei colleghi collaborarono con sostenitori del metodo Rinkel per programmare uno studio controllato del loro sistema di desensibilizzazione. Come si poteva prevedere da ricerche precedenti che evidenziavano la necessità di dosi relativamente elevate, questo studio non poté dimostrare alcun effetto reale. Un'altra bizzarra pratica è quella di porre sotto la lingua del paziente piccole quantità dell'allergene incriminato, come forma di desensibilizzazione. Non esiste la minima prova dell'efficacia di questo metodo.

Coloro che svolgono ricerca secondo i metodi scientifici canonici possono sentirsi incoraggiati nel considerare quanti progressi siano stati fatti dagli esordi ai giorni nostri. Nonostante ciò, restano molte lacune. Occorre comprendere con maggior ricchezza di particolari i meccanismi della trasduzione del segnale di attivazione, in modo da poter mettere a punto farmaci che blocchino la liberazione di mediatori e altre sostanze affini dalle cellule del sistema immunitario. È importante chiarire con esattezza quali delle cellule circolanti siano coinvolte nello scatenamento della reazione allergica e quali siano precisamente i meccanismi per il loro reclutamento nel sito di reazione. Dobbiamo anche capire quali delle molteplici sostanze (molte delle quali con effetti ridondanti) secrete dalle cellule siano le più importanti ai fini dell'induzione dei sintomi dell'allergia, in modo da potere sviluppare efficaci antagonisti. Confido che gli strumenti messi a punto dai ricercatori che operano nell'industria biotecnologica e farmaceutica e nei laboratori universitari potranno contribuire a risolvere questi problemi nel giro di pochi anni.

BIBLIOGRAFIA

KAY A. BARRY, AUSTEN K. FRANK e LICHTENSTEIN LAWRENCE M. (a cura), *Asthma: Physiology, Immunopharmacology, and Treatment*, Academic Press, 1984.

MIDDLETON E., Jr., REED C. E., ELLIS E. F., ADKINSON N. F. e YUNGINGER J. W. (a cura), *Allergy: Principles and Practice*, C. V. Mosby, 1988.

VALENTINE MARTIN D. e altri, *The Value of Immunotherapy with Venom in Children with Allergy to Insect Stings* in «New England Journal of Medicine», 323, n. 23, 6 dicembre 1990.

BOCHNER BRUCE S. e LICHTENSTEIN LAWRENCE M., *Anaphylaxis* in «New England Journal of Medicine», 324, n. 25, 20 giugno 1991.

TOGIAS A. G. e LICHTENSTEIN L. M., *The Pathophysiology of Allergic Rhinitis and Its Implications for Management* in *The Mast Cell in Health and Disease*, a cura di M. A. Kaliner e D. D. Metcalfe, Marcel Dekker, 1992.

Il sistema immunitario come agente terapeutico

I meccanismi molecolari alla base del sistema immunitario suggeriscono terapie innovative che vanno dalla limitazione delle risposte in caso di autoimmunità e rigetto all'incremento delle difese contro cancro e AIDS

di Hans Wigzell

I molteplici mezzi di cui il sistema immunitario dispone per attaccare batteri e virus invasori offrono una grande varietà di composti e di strategie molecolari che possono estendere la portata dell'intervento medico. Servendoci di quanto sappiamo sul sistema immunitario, possiamo rafforzarne la risposta a un determinato antigene, orientarlo affinché combatta un nemico che era stato sottovalutato oppure, in caso di rigetto di organi trapiantati, prevenire un attacco inopportuno.

Oggi molti sforzi sono dedicati al miglioramento dei vaccini già esistenti, allo scopo di renderli più specifici e di eliminare qualsiasi reazione avversa che possa accompagnare l'immunizzazione. Questi perfezionamenti e la conoscenza più approfondita di certe malattie hanno suggerito metodi innovativi per limitare, tramite la localizzazione e il blocco di molecole specifiche, la risposta del sistema immunitario nei casi di allergia, di autoimmunità e di rigetto di organi trapiantati. D'altro canto si stanno elaborando nuove terapie per migliorare le possibilità di attacco contro il cancro e l'AIDS. Il campo di ricerca forse più entusiasmante è l'impiego di componenti del sistema immunitario come agenti mimetici biologici ed enzimi in grado di favorire il trattamento di varie malattie.

Vi sono due impostazioni che consentono di sfruttare il sistema immunitario a scopo terapeutico, le quali prevedibilmente riflettono due aspetti della funzione immunologica. Certe reazioni del sistema immunitario sono antigene-specifiche: linfociti *T* o anticorpi specializzati reagiscono solo a un bersaglio preciso, costituito da un organismo o un'entità estranei. L'azione dei linfociti *T* è definita risposta «mediata da cellule»; la risposta degli anticorpi è detta «umorale».

La seconda forma di reazione del sistema immunitario non è antigene-specifica; in questo tipo di risposta rientra l'azione di composti come le citochine, che assomigliano a ormoni, o i peptidi antibatterici. Queste molecole possono distruggere le pareti delle cellule batteriche, impedire la replicazione virale o interferire in numerosi altri modi con i meccanismi vitali degli agenti patogeni.

Le applicazioni terapeutiche della prima impostazione sono ben note perché includono una delle armi difensive più potenti della medicina: i vaccini contro le malattie infettive. La chiave del funzionamento dei vaccini sta nella «memoria» del sistema immunitario: non solo esso può riconoscere e distruggere pressoché qualsiasi agente invasore, ma anche ricordare per decenni le schermaglie precedenti. Così, quando a un soggetto si somministra una dose di un agente infettivo attenuato, per esempio del virus della poliomielite, l'organismo reagisce producendo anticorpi e linfociti *T* che alla fine riusciranno a eliminare il virus. Una volta che l'agente infettivo sarà stato debellato, gli anticorpi e i linfociti *T* specializzati rimarranno pronti a proteggere l'individuo immunizzato da ogni futuro, e forse più virulento, incontro con lo stesso agente invasore.

Vaccinazioni di vario tipo vengono effettuate da centinaia di anni. Plinio il Vecchio riteneva che il fegato di cani idrofobi contenesse un principio curativo efficace contro la rabbia. Per secoli, in Asia i medici prelevarono le croste delle lesioni da vaiolo e vi esposero i bambini o mediante scarificazione cutanea o per inalazione. Molti bambini vennero immunizzati da questo trattamento, ma alcuni si ammalarono comunque di vaiolo. Solo nel 1796 il medico britannico Edward Jenner si servì di un virus affine, il virus del vaiolo vaccino, per un'immunizzazione efficace e sicura.

All'inizio del Novecento, le tecniche per la produzione di vaccini divennero più precise: microrganismi coltivati in laboratorio e poi uccisi o attenuati erano somministrati in piccole dosi come vaccini. Questi perfezionamenti non assicuravano sempre la purezza del prodotto: talvolta si aveva insorgenza della malattia, e non erano rare le reazioni ai vaccini. Da allora la ricerca sui vaccini procedette a un ritmo faticosamente lento.

Gli sviluppi dell'ultimo decennio hanno però riportato alla ribalta questo campo di indagini. Oggi, mediante tecniche molecolari, si può localizzare rapidamente la componente genetica di un microrganismo che dà origine a una malattia. Si può isolare la proteina, o la serie di proteine, che deriva da questi geni, sintetizzarla in forma pura e in grande quantità e poi procedere alla vaccinazione con l'elemento specifico anziché con l'intero microrganismo. Inoltre, se in un potenziale vaccino si trovassero proteine dannose, esse potrebbero venire facilmente eliminate o modificate.

La specificità accresce l'efficacia di un vaccino. Si possono usare anticorpi monoclonali per scoprire il sito neutralizzante, ossia la parte vulnerabile, di un batterio o di un virus. La maggior parte degli anticorpi che l'organismo produce per avere il sopravvento su un agente invasore - come per esempio il virus dell'influenza - è inefficace in quanto è diretta contro proteine che non consentono di eliminare il nemico; invece la restan-

Nei trapianti (in questo caso un trapianto di fegato) il sistema immunitario del ricevente può causare il rigetto dell'organo. Recenti scoperte nel campo dell'immunologia stanno indicando nuovi metodi che permetteranno di manipolare senza rischi il sistema immunitario per impedirgli di attaccare i trapianti.

Eventi nella storia dello sviluppo dei vaccini

23-79 d.C. — Plinio il Vecchio propone che il fegato dei cani idrofobi contenga un agente antirabbico

XVI SECOLO — In Asia si utilizzano per l'immunizzazione le croste delle lesioni da vaiolo, con risultati alterni

1796 — Jenner impiega il virus del vaiolo vaccino nel primo vaccino antivaioloso efficace

Edward Jenner

1885 — Pasteur mette a punto un vaccino antirabbico

Louis Pasteur

1890-1904 — Von Behring e Shibasaburo Kitasato sperimentano con successo vaccini per la difterite e il tetano

Emil A. von Behring

1900-1910 — Sono prodotti vaccini per il tifo e il colera

1914 — Il vaccino antitetanico diventa disponibile

1920-1930 — È prodotto un vaccino per la tubercolosi

1930-1940 — Sono prodotti vaccini per la difterite e la febbre gialla

1940-1950 — Sono ottenuti vaccini per l'influenza e la pertosse

1955-1960 — Salk e Sabin scoprono forme diverse di vaccino per la poliomielite

Jonas E. Salk

Alfred B. Sabin

1960-1970 — Sono ottenuti vaccini per il morbillo e la rosolia

te minoranza di anticorpi attacca un punto debole delle difese virali. Quindi, se un soggetto riceve un vaccino composto dalla proteina (o dalla serie di proteine) che costituisce il sito neutralizzante, la sua produzione di anticorpi diretti contro questa parte del virus aumenterà e la malattia sarà debellata.

I progressi nella progettazione di vaccini sono stati accompagnati dall'elaborazione di metodi più efficaci per produrre l'immunizzazione. Per esempio, i linfociti *T killer* (o citotossici) non possono attaccare un antigene a meno che non sia portato all'interno di una cellula e presentato su un composto di superficie: una proteina del maggior complesso di istocompatibilità (MHC). In passato, per assicurare l'assorbimento dell'antigene e la sua corretta presentazione, era indispensabile che il vaccino fosse costituito da organismi vivi, un'esigenza che comportava spesso dei rischi.

Nuovi adiuvanti permettono di superare questo problema, assicurando che l'antigene sia «visto» dalla cellula appropriata del sistema immunitario. È possibile inserire un antigene in liposomi (minuscole capsule fatte di molecole lipidiche) che, una volta introdotti nell'organismo, sono inglobati dai macrofagi. Come camerieri che servano un *buffet* a convitati famelici, i macrofagi e le altre cellule del sistema immunitario che hanno inglobato i liposomi con il loro carico di antigeni si trovano circondati da linfociti *T*.

Un altro metodo affascinante per ottenere una risposta da parte di un linfocita *T* killer comporta l'iniezione in un muscolo scheletrico di DNA che codifichi per una proteina estranea. Anche se questo fenomeno non è ancora ben chiarito, sembra che le cellule muscolari, che sono molto più grandi della maggior parte delle altre cellule dell'organismo, possano fungere da «fabbriche» dove gli antigeni, oltre a essere prodotti, vengono rielaborati e poi presentati su molecole MHC. Le cellule muscolari sintetizzano la proteina estranea codificata dal DNA iniettato al loro interno e quindi la presentano come antigene riconoscibile dai linfociti *T*. Sebbene vi sia una risposta autoimmunitaria contro le cellule muscolari, sembra che essa sia trascurabile.

Nonostante questi progressi nelle tecniche di applicazione dei vaccini, molti microrganismi conservano la capacità di eludere il sistema immunitario. Entità inafferrabili quali il parassita della malaria cambiano continuamente aspetto mentre rimescolano senza interruzione i propri sistemi genetici. Una conoscenza più approfondita della struttura di questi microrganismi permetterà sicuramente di progettare vaccini migliori, ma esisteranno sempre agenti patogeni in grado di resistere all'azione immunizzante.

I vaccini appena descritti hanno una funzione profilattica, cioè devono essere somministrati prima del contatto con un organismo patogeno. Sono stati prodotti anche vaccini che hanno una funzione curativa e che, come i loro cugini, hanno beneficiato dei recenti progressi della biologia molecolare. Per esempio l'immunoterapia di pazienti affetti da allergie ai pollini o a proteine animali sta subendo una notevole trasformazione; il trattamento tradizionale delle allergie comporta la somministrazione ripetuta di un allergene, per esempio pelo di gatto, in concentrazioni molto basse e gradualmente crescenti. Questa terapia classica può ridurre la sensibilità di un soggetto all'allergene, ma funziona solo in alcuni pazienti, e il suo meccanismo d'azione è tuttora discusso.

Un'alternativa più sofisticata è quella di neutralizzare gli anticorpi coinvolti nella reazione. L'allergia immediata di cui abbiamo parlato è generalmente provocata da un'iperproduzione di anticorpi (immunoglobuline) appartenenti alla classe IgE. Pertanto sarebbe logico intervenire sopprimendo le IgE e le reazioni a esse associate.

Due messaggeri chimici prodotti dai linfociti *T*, l'interleuchina 4 e l'interleuchina 5, incrementano la sintesi di IgE. Dato che molti organismi che provocano allergie hanno un'insolita capacità di indurre la formazione di questi composti, si potrebbero progettare vaccini in grado di bloccarli. Il potenziale successo di un simile procedimento è stato indicato da esperimenti di laboratorio su topi: i roditori che non producono interleuchina 4 sono anche incapaci di sintetizzare le IgE. Un altro messaggero chimico, l'interferone gamma, favorisce la produzione di molecole che inibiscono la formazione delle due interleuchine. Pertanto i vaccini messi a punto per curare le allergie dipendenti dalle IgE potrebbero includere un agente in grado di indurre la sintesi di interferone gamma.

La riduzione della risposta immunitaria è anche il segreto per impedire il rigetto nei trapianti d'organo e per curare le malattie autoimmuni. Il traguardo da raggiungere in un trapianto è quello di creare nel ricevente una tolleranza specifica verso gli antigeni che provengono dal donatore dell'organo o del tessuto trapiantato, oppure, nel caso del trapianto di midollo osseo, di impedire ai linfociti prodotti nel midollo del donatore di attaccare i tessuti dell'ospite. Sappiamo che nell'uomo questo è possibile in quanto gemelli non identici, che hanno avuto in comune la circolazione sanguigna nell'utero materno, possono accettare reciprocamente trapianti.

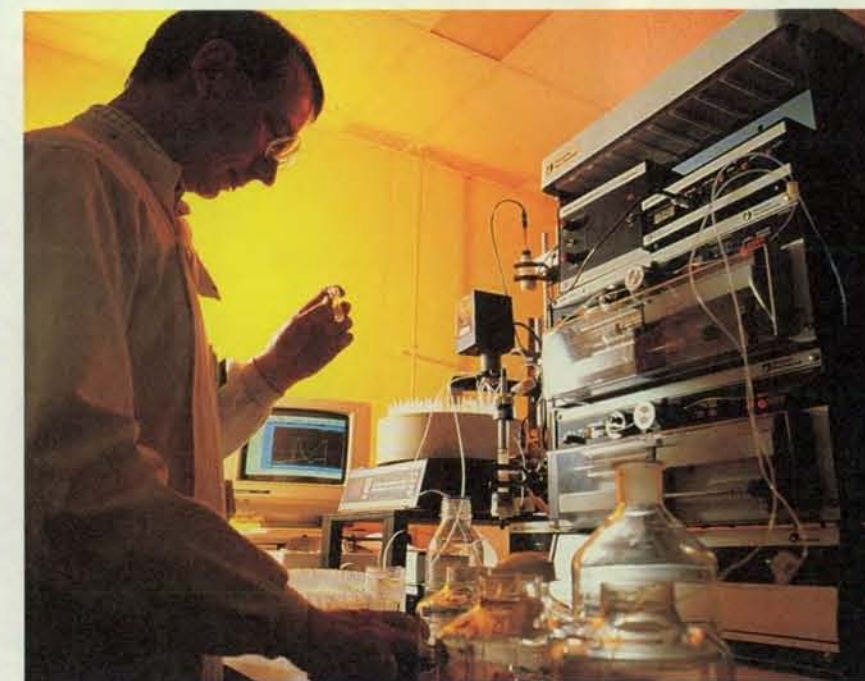
Un modo elegante per conseguire la tolleranza sarebbe quello di sfruttare una risposta autoimmunitaria controllata. Il sistema immunitario del ricevente si potrebbe utilizzare per identificare ed eliminare i linfociti *T* che presentano recettori per gli antigeni contenuti nel tessuto trapiantato. In effetti si è potuto indurre autoimmunità contro i linfociti *T* dotati della capacità di legarsi a un antigene specifico. Ho partecipato a esperimenti in cui a ratti di un ceppo A si iniettavano linfociti *T* diretti contro gli antigeni contenuti nei tessuti di ratti di ceppo B.

In alcuni animali l'immunizzazione produceva, nei riguardi degli antigeni del ceppo B, una tolleranza specifica che durava per tutta la vita, senza che vi fossero complicazioni. Questi entusiasmanti esperimenti sono stati, però, frustranti per un altro verso, in quanto è stato impossibile ottenere in maniera riproducibile una tolleranza specifica basata su reazioni autoimmunitarie. Tuttavia il fatto che si sia riusciti a produrre un numero limitato, ma ben definito, di ratti funzionalmente tolleranti mostra la validità biologica di questa ipotesi di lavoro.

L'intervento immunitario finora coronato da maggiore successo nel caso dei trapianti consiste nel dirigere anticorpi monoclonali contro la risposta immunitaria mediata da cellule. Di fatto, il primo anticorpo monoclonale brevettato come farmaco è indirizzato contro la parte costante del recettore per l'antigene presente sui linfociti *T* che è la causa del rigetto nel trapianto di rene. (La parte costante del recettore è la stessa in tutti i linfociti *T*; la parte variabile, invece, cambia e dà luogo alla specificità antigenica.) Purtroppo, anche se inibisce il rigetto del rene, il farmaco ha il grave inconveniente di bloccare il funzionamento di tutti i linfociti *T*.

Sono in corso di progettazione anticorpi monoclonali con un'attività immunodepressiva più specifica. Alcuni sono diretti contro le molecole CD4 o CD8 dei linfociti *T* che si legano agli antigeni; altri contro le molecole di adesione presenti alla superficie dei linfociti *T*; altri ancora contro i recettori per le interleuchine. Sembra che diversi di questi anticorpi abbiano avuto un effetto benefico in prove preliminari su pazienti.

Oltre a bloccare l'aggressione del sistema immunitario ad antigeni estranei, questi vaccini hanno potenzialmente la capacità di inibire l'attacco diretto contro l'organismo stesso (il «sé»). Per lungo tempo si sono ignorate le cause di molte malattie autoimmuni, tra cui l'artrite reumatoide, nella quale i linfociti *T* attaccano le articolazioni, il diabete insulino-dipendente, causato dall'aggressione alle cellule pancreatiche che producono insulina, e la sclerosi multipla, nella quale i linfociti *T* attaccano la guaina che avvolge le cellule nervose. I modelli animali fanno pensare che sia l'immunizzazione con componenti del sé a indurre le malattie autoimmuni. Per

In questa fotografia del 1959, gli abitanti di Harlem fanno la coda per ricevere un vaccino antipoliomielite da una unità sanitaria mobile, nell'ambito di una campagna tesa a vaccinare tutti gli abitanti di New York. Ora che il vaiolo è stato debellato, l'Organizzazione mondiale della sanità mira a eliminare anche il poliovirus.

Le tecniche di laboratorio hanno compiuto spettacolari progressi nell'ultimo decennio, permettendo di ottenere vaccini più selettivi e sofisticati. Nella fotografia un apparecchio controllato da calcolatore è usato per produrre anticorpi monoclonali.

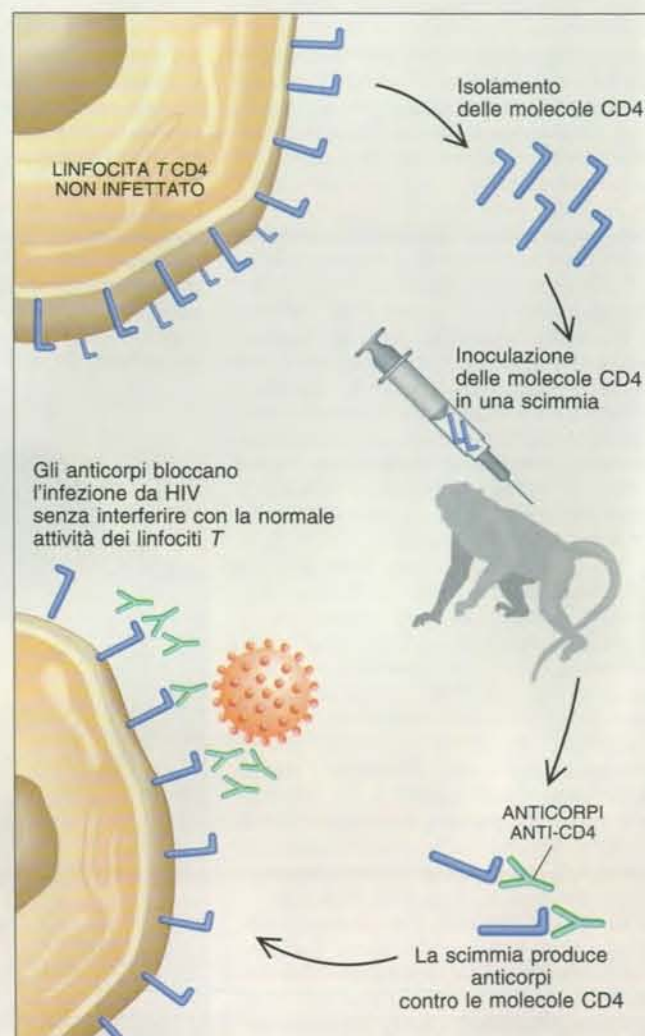
1968	1970-1980	1978	1980-1990	1990
È progettato un vaccino per la parotite	Sono prodotti vaccini per le infezioni meningococciche e la varicella	È preparato un vaccino per le malattie polmonari	Sono disponibili un vaccino per l'epatite B e un vaccino combinato per parotite, morbillo e rosolia	È introdotto un vaccino per *Hemophilus influenzae*, una causa della meningite

esempio, un'iniezione di collagene di ratto in un soggetto della stessa specie può dare origine a una patologia simile all'artrite reumatoide. Tuttavia, fino a tempi recenti non è stato chiaro se i modelli animali rispecchiassero veramente quello che accade negli esseri umani.

Senza tener conto della loro eziologia, le malattie autoimmuni sono abbastanza note da permettere di affrontare la ricerca di vaccini. Una terapia antigene-specifica per le malattie autoimmuni ha solo due possibili bersagli: l'agente che provoca la malattia, o antigene, e i linfociti *T* specifici per l'antigene che attaccano il tessuto. Nel caso delle malattie autoimmuni umane, l'antigene è ancora sconosciuto, cosicché una strategia importante è stata quella di eliminare selettivamente i linfociti *T* nel tessuto colpito. (In gran parte dei casi le malattie autoimmuni sono mediate da cellule.)

In pratica la tattica consiste nel ricorrere all'autoimmunità per combattere l'autoimmunità. Quando si esaminano le popolazioni locali di linfociti *T* che provocano una malattia, si trova spesso che in corrispondenza del sito colpito vi è una enorme proliferazione di linfociti *T* che riconoscono un certo antigene. Per esempio i miei colleghi e io abbiamo visto che, nel caso della sarcoidosi - una malattia autoimmune che colpisce i polmoni - nel 100 per cento dei pazienti con costituzione genetica simile si trova un numero insolitamente grande di linfociti *T* dotati di un recettore caratteristico.

In esperimenti sugli animali si è spesso riusciti a ottenere un'immunizzazione contro prodotti del segmento variabile del gene che inducono un recettore ben identificabile. Così si blocca l'attività dei linfociti *T* che presentano questo particolare recettore. In seguito a questo tipo di immunizzazione, si sono osservate quantità ridotte di linfociti *T* che esprimevano il relativo marcatore prodotto dal gene variabile, oltre a una diminuzione della funzionalità immunitaria dei linfociti che esponevano quel marcatore. L'immunizzazione dava anche protezione nei confronti di altre malattie autoimmuni caratterizzate dall'attività di linfociti *T* con lo stesso recettore. Alcuni gruppi di ricerca hanno vaccinato pazienti con prodotti del gene variabile di origine umana; si saprà presto se queste immunizzazioni danno luogo a un attacco autoimmunitario contro i relativi linfociti *T* e, in caso positivo, se questo risultato può avere applicazioni cliniche.

Sono attualmente in fase di sperimentazione due varietà di vaccini terapeutici anti-AIDS . La prima (*a sinistra*) comporta l'isolamento di una proteina, la gp 160 (composta di gp 120 e gp 41), dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV). La gp 160 viene inoculata in un paziente infettato dal virus, che così produce anticorpi contro la proteina circolante e quindi incrementa il numero di anticorpi disponibili per attaccare l'intero virus. Il secondo tipo di vaccino (*a destra*) comporta il prelievo di molecole CD4 da linfociti *T* e la loro inoculazione in un macaco infettato. La scimmia reagisce producendo anticorpi anti-CD4; questi anticorpi si legano alle molecole CD4 e così facendo impediscono al virus di penetrare nei linfociti *T*.

Nei casi di autoimmunità, di rigetto dei trapianti e di allergia, la reazione del sistema immunitario deve essere ridotta e riorientata. Il discorso opposto vale per l'AIDS e per il cancro: si deve incentivare l'attacco da parte del sistema immunitario. La drammatica situazione provocata dalla comparsa del virus dell'immunodeficienza umana (HIV), che provoca l'AIDS, ha spinto a compiere ogni sforzo per produrre vaccini terapeutici, oltre che a progettare vaccini con funzione profilattica. Questi lavori sperimentali non hanno portato ad alcuna applicazione clinica utile, ma hanno suggerito interessanti indirizzi di ricerca.

In uno di questi tentativi si sono isolate proteine dell'involucro dell'HIV, e precisamente la gp 120 o la gp 160 (una combinazione di gp 120 e di gp 41), che vengono poi somministrate a individui infettati dal virus, ma in cui non si siano ancora sviluppati i sintomi della malattia. Il procedimento, come è stato osservato inizialmente al Walter Reed Army Institute of Research e confermato dai miei colleghi al Karolinska Institut, può dar luogo a una risposta immunitaria potenziata contro l'HIV: si è notato fra l'altro un aumento del livello di anticorpi che neutralizzano la proteina dell'involucro e altre varianti dell'HIV. Normalmente nei pazienti infettati i livelli dei linfociti *T* CD4, che si legano all'HIV, si abbassano; ma in almeno due occasioni il declino di questi linfociti è stato scongiurato a seguito della vaccinazione con la proteina gp 160, anche se questa osservazione deve ancora essere confermata.

Un secondo interessante candidato alla funzione di vaccino terapeutico contro l'HIV è legato al fenomeno dell'autoimmunità. In una serie di esperimenti, Norman L. Letvin e il suo gruppo della Harvard University hanno iniettato in macachi molecole CD4 ricombinanti allo scopo di bloccare l'infezione virale e hanno trovato che gli animali producevano anticorpi contro quelle molecole. Sembra che gli anticorpi non abbiano alcun effetto sul funzionamento normale dei linfociti *T* CD4, ma possano inibire *in vitro* l'HIV e il SIV - il virus del cercopiteco grigio-verde africano generalmente detto virus dell'immunodeficienza delle scimmie - impedendo a entrambi di duplicarsi. È chiaro che questi anticorpi agiscono perturbando il sito di legame del virus con i linfociti *T* CD4, impedendo così a questi ultimi di essere infettati da particelle virali. Se il virus non riesce a entrare nelle cellule non può distruggerle. L'immunizzazione con molecole CD4 ricombinanti ha provocato, inoltre, la riduzione o addirittura la scomparsa, anche per quattro mesi, del virus dal sangue di scimmie infettate dal SIV.

La frequente comparsa di forme di cancro normalmente rare, tra cui il sarcoma di Kaposi, in pazienti affetti da AIDS ha fatto pensare ad alcuni ricercatori che il sistema immunitario potrebbe normalmente combattere questi tumori, anche se, in realtà, il suo ruolo nella soppressione del cancro è tuttora oggetto di accesi dibattiti. Comunque questa eventualità, assieme all'osservazione che talvolta il sistema immunitario riesce a debellare forme comuni di cancro, è alla base di alcuni tentativi di immunoterapia dei tumori.

A questo scopo, è di fondamentale importanza incrementare la risposta immunitaria precoce a un tumore. Se il sistema immunitario riuscisse a riconoscere e ad attaccare gli antigeni associati al tumore prima che questo raggiungesse dimensioni critiche, le possibilità di eliminarlo sarebbero notevolmente migliori (si veda l'articolo *Come combattere il cancro attivando il sistema immunitario* di Thierry Boon in «Le Scienze» n. 297, maggio 1993). Questo tipo di intervento immunitario precoce è particolarmente promettente per quelle forme di cancro in cui sono implicati virus. A questi tumori sono associati antigeni codificati da geni virali. Quando uno di questi geni viene inserito in cellule animali sane, i linfociti *T* possono uccidere tutte le cellule che esprimono la proteina antigenica. Nel topo, analoghi vaccini somministrati dopo l'infezione virale bloccano la comparsa dei tumori.

In altre forme di cancro, molecole associate al tumore con funzione di antigeni possono essere indotte da mutazioni geniche. I geni interessati (oncogèni o geni soppressori degli oncogèni) partecipano alla proliferazione cellulare. Le mutazioni danno origine a nuovi peptidi antigenici contro cui possono reagire i linfociti *T*. Sono in corso intense ricerche per stabilire se quest'ultima strategia si possa usare per produrre vaccini in grado di indurre una risposta immunitaria terapeutica contro tumori già formati.

In generale, i linfociti *T* killer sono più distruttivi degli anticorpi, ma purtroppo la maggior parte dei linfociti *T* è inefficace contro molte proteine associate ai tumori. In situazioni in cui non è così, però, sono stati isolati linfociti *T* in grado di infiltrare il tessuto tumorale. Essi sono stati utilizzati come germi per colture *in vitro* di grandi dimensioni e, una volta prodotti in massa, sono stati nuovamente inoculati nel paziente. Tuttavia, malgrado questi progressi, solo in

I messaggeri chimici prodotti dal sistema immunitario, come l'interferone gamma, possono servire per potenziare l'attacco a un antigene. Prima che l'antigene possa essere «visto» dai linfociti *T* deve essere rielaborato dai macrofagi e presentato su una molecola del maggior complesso di istocompatibilità (MHC). L'interferone gamma amplifica questo processo (*in basso*) facendo sì che i macrofagi espongano una maggiore quantità di antigene, e quindi incrementando l'attività dei linfociti *T*.

pochissimi pazienti sono stati osservati miglioramenti degni di rilievo.

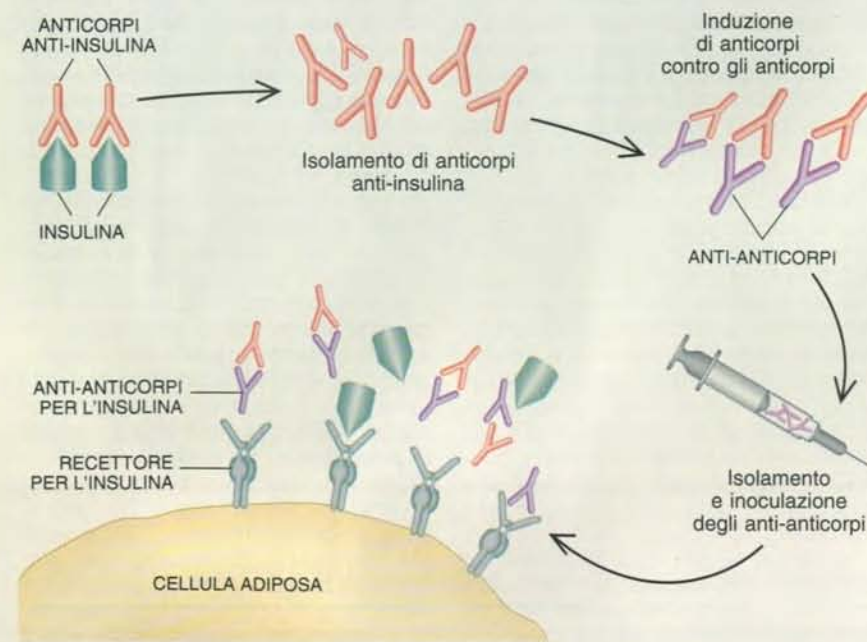
Una soluzione alternativa consiste nel dirigere anticorpi monoclonali contro molecole situate sulla superficie delle cellule tumorali, ma anche questa strategia ha avuto un successo limitato. Gli anticorpi diretti contro il recettore dell'interleuchina 2, che si trova nei tumori provocati dal virus HTLV-1, possono dar luogo a una remissione, ma in altre neoplasie il requisito necessario per ottenere un simile successo è la preliminare riduzione della massa tumorale (per via chirurgica o con altre terapie).

Va ricordata ancora un'altra promettente linea di attacco. Gli immunologi sono riusciti a stimolare risposte sia umorali sia mediate da cellule utilizzando molecole ibride, ossia strutture artificiali che combinano le caratteristiche di altre molecole importanti sotto il profilo immunologico. Un ibrido interessante è composto da un anticorpo antitumorale e da un superantigene. I superantigeni sono proteine di origine prevalentemente microbica, dotate della particolare capacità di attivare una quantità sostanziale di linfociti *T* indipendentemente dalla loro specificità antigenica. La componente anticorpale dell'ibrido può legarsi agli antigeni presenti sulla superficie del tumore. La componente superantigenica, invece, recluta grandi quantità di linfociti *T* che attaccano le cellule tumorali (questi linfociti «credono» di attaccare il superantigene). Negli esperimenti questi ibridi anticorpo-superantigene sono riusciti a distruggere cellule tumorali.

Gli anticorpi possono anche essere trasformati in antigeni molto potenti, capaci di provocare una forte risposta immunitaria. Negli anni sessanta, Jacques Oudin dell'Institut Pasteur dimostrò che alcuni anticorpi possono essere riconosciuti come antigeni da altri anticorpi. Oudin definì «idiotipici» questi particolari anticorpi e «anti-idiotipici» gli anticorpi che reagiscono a essi. Questo concetto venne poi esteso dal premio Nobel danese Niels K. Jerne con la teoria della rete immunologica. In un sistema di questo tipo, alcuni anticorpi anti-idiotipici reagiscono con il sito di legame per l'antigene presente sull'anticorpo idiotipico, e vengono così ad assomigliare all'antigene. Anche se all'inizio venne considerato con scetticismo, il lavoro di Jerne è riuscito a dimostrare che gli anticorpi anti-idiotipici possono di fatto funzionare come l'antigene che imitano; possono quindi promuovere un'immunità efficace contro una malattia infettiva.

Si possono anche progettare anticorpi che assumano le funzioni di molecole antigeniche. Uno dei primi esempi di una simile funzionalità estesa è venuto da esperimenti su anticorpi anti-insulina. Anticorpi di questo tipo sono stati utilizzati per produrre anti-anticorpi. Quando si è analizzata l'attività biologica di questi ultimi si è trovato che essi reagivano con gli anticorpi anti-insulina, bloccando così gli attacchi contro questo ormone. Inoltre si è anche trovato che essi si legavano ai recettori cellulari per l'insulina e, quando erano somministrati ad animali, abbassavano i livelli di glucosio nel sangue; in altre parole, alcuni anti-anticorpi funzionavano come l'insulina.

In seguito si è osservato che le molecole di anticorpi possono imitare le funzioni di parecchie altre molecole, tra cui neurotrasmettitori e regolatori del sistema immunitario. Anche se questi risultati non hanno dato luogo a terapie utili, la situazione potrebbe modificarsi presto: in una importante serie di studi è stato infatti possibile produrre anticorpi con attività enzimatica, di tipo catalitico.

Questi anticorpi possono estendere la portata dell'attività anticorpale, permettendo di effettuare qualcosa di più che non un semplice legame con un bersaglio. Le attività enzimatiche svolte dagli anticorpi catalitici includono la scissione dei legami peptidici convenzionali, ma anche funzioni completamente nuove, quali la detossificazione di molecole molto tossiche. A questo fine, un gruppo guidato da Donald Landry del College of Physicians and Surgeons della Columbia University ha progettato un anticorpo catalitico che può degradare la cocaina nel circolo sanguigno. Tra breve si potrebbero sintetizzare proteasi in grado di scindere selettivamente una proteina essenziale dell'involucro di un virus letale, come l'HIV. Poiché gli anticorpi hanno *in vivo* un tempo di dimezzamento relativamente lungo, quelli enzimaticamente attivi potrebbero essere utilizzati al posto di un enzima mancante.

Gli anticorpi diretti contro altri anticorpi possono imitare sostanze biologiche e deprimere le risposte immunitarie. In alcune patologie il sistema immunitario produce anticorpi contro l'insulina, che possono essere isolati e utilizzati per indurre la produzione di anti-anticorpi. Quando sono introdotti in un paziente (*in basso*), gli anti-anticorpi bloccano gli anticorpi che danneggiano l'insulina. Essi si legano anche al recettore per l'insulina e fanno diminuire i livelli di glucosio nel sangue.

Anche se in prevalenza si progettano immunoterapie basandosi sugli elementi antigene-specifici del sistema immunitario (anticorpi e linfociti *T*), il quadro va rapidamente modificandosi. L'isolamento, la clonazione, l'espressione e la produzione di un gran numero di polipeptidi e di proteine farmacologicamente attivi a partire dalle componenti più antiche, non antigene-specifiche, del sistema immunitario, hanno aperto una nuova via alle indagini.

Durante l'evoluzione, il sistema immunitario umano ha prodotto un complesso insieme di dispositivi per neutralizzare le infezioni. Per esempio, alcuni peptidi, le cecropine, difensine e magainine, si trovano negli insetti, ma talvolta anche nella cute e nelle mucose di animali superiori; queste molecole distruggono molti batteri inserendosi nelle loro pareti cellulari e demolendole.

Lievi alterazioni nella composizione di questi peptidi non ne danneggiano la funzione. Si possono ottenere peptidi sintetici da D-amminoacidi (amminoacidi destrogiri) anziché da normali L-amminoacidi (amminoacidi levogiri, quelli dotati di attività biologica e normalmente presenti nell'organismo). Fatto sorprendente, questi peptidi costituiti da D-amminoacidi hanno gli stessi effetti delle loro immagini speculari, sono più

Una nuova terapia antitumorale sfrutta due aspetti della risposta immunitaria: il riconoscimento di un antigene da parte degli anticorpi (*in alto a sinistra*) e la reazione dei linfociti *T* ai superantigeni (*in alto a destra*). I superantigeni sono proteine che possono indurre un attacco da parte di molti linfociti *T*. Questa strategia si basa sulla fusione di un superantigene e di un anticorpo che riconosce un antigene tumorale. Quando l'ibrido così ottenuto incontra il tumore (*in basso*), la componente anticorpale si lega all'antigene e il superantigene attrae i linfociti *T* che lo distruggono eliminando il tumore. La terapia funziona perché i linfociti *T* sono più attivi degli anticorpi.

stabili e meno facilmente degradabili. Una simile scoperta fa pensare che i D-peptidi non si leghino a recettori (altrimenti non avrebbero alcuna attività), ma piuttosto a lipidi specifici della parete batterica. Pertanto si potrebbero produrre antibiotici a lunga vita basati sul «sé» capaci di uccidere i batteri senza danneggiare le cellule dell'ospite.

Altre proteine attive sotto il profilo farmacologico offrono ulteriori possibilità terapeutiche. In particolare è interessante la famiglia delle citochine, che comprende le interleuchine, prodotte dai globuli bianchi del sangue, e gli interferoni, che stimolano l'attività dei linfociti e delle cellule spazzine deputate alla digestione delle particelle estranee.

Tra queste sostanze, gli interferoni sono stati definiti per primi sotto il profilo molecolare. Il nome è stato loro attribuito in base a un'osservazione clinica secondo la quale un paziente infettato da un virus è protetto nei confronti di un secondo virus perché qualche caratteristica immunologica interferisce con la riproduzione virale. Vi sono tre tipi principali di interferoni: alfa, beta e gamma.

Dopo una serie di fin troppo entusiastiche affermazioni da parte di alcuni ricercatori, oggi gli interferoni stanno trovando il loro giusto posto come farmaci più convenzionali per curare alcune malattie virali: tra queste l'epatite cronica B e C, i papillomi della laringe e tumori relativamente rari, come la reticoloendoteliosi leucemica e i carcinoidi dell'intestino. Sono emersi poi risultati assai positivi dal trattamento della sclerosi multipla con l'interferone beta, anche se i motivi non sono chiari; il trattamento con l'interferone gamma di questa malattia ha invece l'effetto opposto in quanto provoca un peggioramento.

Anche se per uno scienziato è penoso ammetterlo, il meccanismo effettore che sta alla base dell'azione degli interferoni nelle singole malattie è in genere ignoto. Pertanto le nuove applicazioni degli interferoni derivano più da tentativi ed errori che da indirizzi precisi basati su una conoscenza scientifica. Nondimeno, prevedo che gli interferoni troveranno un numero crescente di applicazioni cliniche, specialmente nel campo della terapia dei tumori.

Tentare un'analisi approfondita delle interleuchine trascende gli scopi di questo articolo: si prevede che il numero di quelle identificate supererà presto la ventina. Tuttavia vi sono già conoscenze sufficienti su parecchie di esse per poter avanzare alcune congetture. In sistemi sperimentali, si è visto che l'inclusione di alcune interleuchine o dei loro precursori in vaccini più convenzionali contro malattie infettive ha conseguenze profonde sul carattere e sull'intensità della successiva risposta immunitaria. Talora la produzione locale simultanea degli antigeni del vettore vaccinico e dell'interleuchina ha avuto effetti sinergici, inducendo una risposta immunitaria potenziata e mirata contro quegli antigeni.

L'azione delle interleuchine nelle malattie infettive non è insignificante. Per esempio in due malattie parassitarie, la schistosomiasi e la malattia del sonno, si è trovato che l'induzione di due citochine (rispettivamente il fattore di necrosi tumorale alfa e l'interferone gamma) è essenziale per la colonizzazione da parte dei parassiti. È pertanto indispensabile che i vaccini che inducono immunità non solo potenzino la produzione di alcune citochine, ma evitino anche l'induzione di altre. La nostra conoscenza di questi composti continua a progredire grazie agli studi sulle interleuchine pure, sui topi transgenici che esprimono in eccesso un'unica interleuchina e sui cosiddetti topi *knockout*, che invece non esprimono alcuna interleuchina.

La scoperta di nuove forme di terapia, come quelle che includono le citochine, ci mostra che il sistema immunitario umano ha ricchezze ancora inesplorate. La complessità di questo sistema difensivo promette di offrire un'abbondanza di proteine e di strategie molecolari che senza dubbio saranno alla base di metodi clinici innovativi. E, come minatori equipaggiati con lampade più luminose e picconi migliori, gli immunologi possono oggi selezionare ed estrarre questi tesori con crescente facilità.

BIBLIOGRAFIA

KLEIN JAN, *Immunology*, Blackwell Scientific Publications, 1990.

OSTERHAUS A. D. e UYTEDEHAAG F. G., *Idiotype Networks in Biology and Medicine: Proceedings of the International Conference on Idiotype Networks in Biology and Medicine*, Elsevier Science Publications, 1990.

GINSBERG HAROLD S. e altri (a cura), *Vaccines 93: Modern Approaches to New Vaccines Including Prevention of AIDS*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1993.